



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID

FACULTAD DE CIENCIAS

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA FÍSICA APLICADA

ÁREA DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS

Efecto de prácticas vitivinícolas sobre el perfil aromático de vinos blancos en la D.O. “Vinos de Madrid”. Estrategias frente al cambio climático

Memoria presentada por:

Julia Crespo García

Para optar al grado de

Doctor en Biología y Ciencias de la Alimentación

Con mención de Doctorado Internacional

Director de tesis:

Dr. Juan Mariano Cabellos Caballero

Tutora académica:

Dra. Mónica Rodríguez

Madrid, 2017

**INSTITUTO MADRILEÑO DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO RURAL, AGRARIO Y
ALIMENTARIO**

DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN AGROALIMENTARIA





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID

FACULTAD DE CIENCIAS

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA FÍSICA APLICADA

ÁREA DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS

**Effect of oenological and viticultural practices on the aroma profile of
white wines in the D.O. "Vinos de Madrid". Strategies against the
climate change**

Memoria presentada por:

Julia Crespo García

Para optar al grado de

Doctor en Biología y Ciencias de la Alimentación

Con mención de Doctorado Internacional

Director de tesis:

Dr. Juan Mariano Cabellos Caballero

Tutora académica:

Dra. Mónica Rodríguez

Madrid, 2017

**INSTITUTO MADRILEÑO DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO RURAL, AGRARIO Y
ALIMENTARIO**

DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN AGROALIMENTARIA



AGRADECIMIENTOS

Me gustaría empezar estas líneas, que escribo con especial ilusión, agradeciendo al destino haber puesto a Mariano y Teresa en mi camino, y a todas aquellas personas, que desde entonces, me han acompañado y ayudado de forma incansable a llegar hasta aquí.

En primer lugar, quiero agradecer al **Dr. Juan Mariano Cabellos** haberme enseñado y contagiado su pasión por la Enología, por su dedicación y apoyo constante para el estudio del complejo mundo de los aromas. Al final lo hemos conseguido, tengo un poquito más de paciencia, eso sí, ¡cada día más rojiblanca! Igualmente, me gustaría manifestar mi profundo agradecimiento hacia la **Dra. Teresa Arroyo**, sin su ayuda profesional y personal nunca lo hubiese conseguido. Es increíble vuestra generosidad y capacidad de ayudar a los demás sin esperar nada a cambio, os admiro y os quiero.

Mención especial merecen mis compañeros/as de departamento. **Marga**, te agradezco enormemente tu ayuda, apoyo y compañía, pero sobre todo gracias por tu amistad, alegría, positivismo y por hacerme ver que las cosas menos bonitas, con un poco de buen rollo, se convierten en chorradas, ¡cómo me río contigo amiga! **Valery**, gracias por nunca decir que no, has sido fundamental en todo el trabajo, no te has perdido nada en y nunca me has dejado sola, sin tu ayuda no hubiesen sido posibles los incontables análisis que hemos realizado, ¡gracias compañera y amiga!. **Elena**, “lo bueno, si breve, dos veces bueno”, así eres, poco tiempo te bastó para ponérmelo fácil, muchas gracias por tu compañía y ayuda cuando la he necesitado. **Ángel**, eres un currante, pero eso ya lo sabes, así que muchas gracias por tus risas, porque cada día de trabajo contigo es una dosis de buen rollo ¡y así da gusto trabajar!, gracias por no quejarte por nada, por ponérmelo fácil y por cuidar de mis lecheras como si fuesen tuyas. Ah! Y por el café de cada mañana. **Miguel Ángel**, muchas gracias por tu ayuda, en general, siempre con ideas y arreglos para todo, ¡que hubiese sido de las lecheras sin el nitrógeno y de las uvas sin las redes! **Andrés**, “Ándres” para nosotras, amigo querido y compi de fatigas, muchas gracias por estar ahí, tu disposición y buen carácter me han ayudado infinito a sobrellevar las crisis que me generaban pensar en la estadística y la burocracia en general, y **Blanca**, mil gracias por tus nociones de estadística, no sabes lo que me ayudaste en dos ratos ¡eres una crack!. Muchas gracias a todos los becarios/as que han pasado por Microbiología y Enología estos años y me habéis ayudado con los análisis, catas, vendimias y contribuido a los buenos ratos en los desayunos. Y gracias a todos aquellos que, en algún momento, habéis formado parte de mi vida en El Encín, empezando por **Irene y Javi**, de quienes aprendí lo bien que se trabaja cuando uno está a gusto. Dr. Javier Tello, mil gracias por todos tus consejos en los últimos meses, tu apoyo ha sido fundamental para no perderme.

Quiero dar las gracias al **IMIDRA**, por haberme brindado la oportunidad de realizar este proyecto y a todos los compañeros, que de una forma u otra, han contribuido con su ayuda. **Miguel**, gracias por amenizar las mañanas mientras nos helábamos, mojábamos y acalorábamos esperando el autobús, pero sobre todo, muchas gracias por estar siempre dispuesto, sin ti mis ordenadores funcionarían a pedales y el ordenador de Cromatografía hubiese terminado con mis nervios. **César y Raúl**, gracias por vuestros consejos y ayuda con la Cromatografía. Muchas gracias a todos los miembros del **panel de cata**, a los de

siempre, a los ocasionales y a los del final, os he dado una buena paliza de vinos y me habéis enseñado ¡que en la diversidad está el gusto! Que difíciles son las catas, y que importantes han resultado en esta tesis. Quiero darle las gracias a todos los que alguna vez me habéis acompañado en el campo, además de vuestra ayuda, hicisteis más llevaderos el calor en pleno julio y las largas temporadas de muestreo.

Gracias a la **Dra. Mónica Rodríguez**, tutora académica de esta tesis, por su ayuda y cordial orientación para realizar todos los trámites administrativos de la Universidad Autónoma de Madrid.

I would especially like to thank to **Dr. Michael Qian**, his wife and his team for trusting in our project and giving me the opportunity to be part of his team at the Oregon State University, where I learned about the grape and wine aroma analysis processes. Thanks to Fang, Fei, Toni and Chi for making me feel comfortable and being my partners during my stay.

Peggy, muchas gracias por todo, es una suerte haberte conocido y haber aprendido tanto de ti y contigo. ¡Te llevaste otra amiga española! **Luc**, je suis reconnaissante de ton soutien et je te remercie d'avoir été présent pour moi. Tu es une personne formidable. Je te rappelle que nous avons un match de l'Atletico de Madrid à aller voir ensemble à Madrid bien sur...

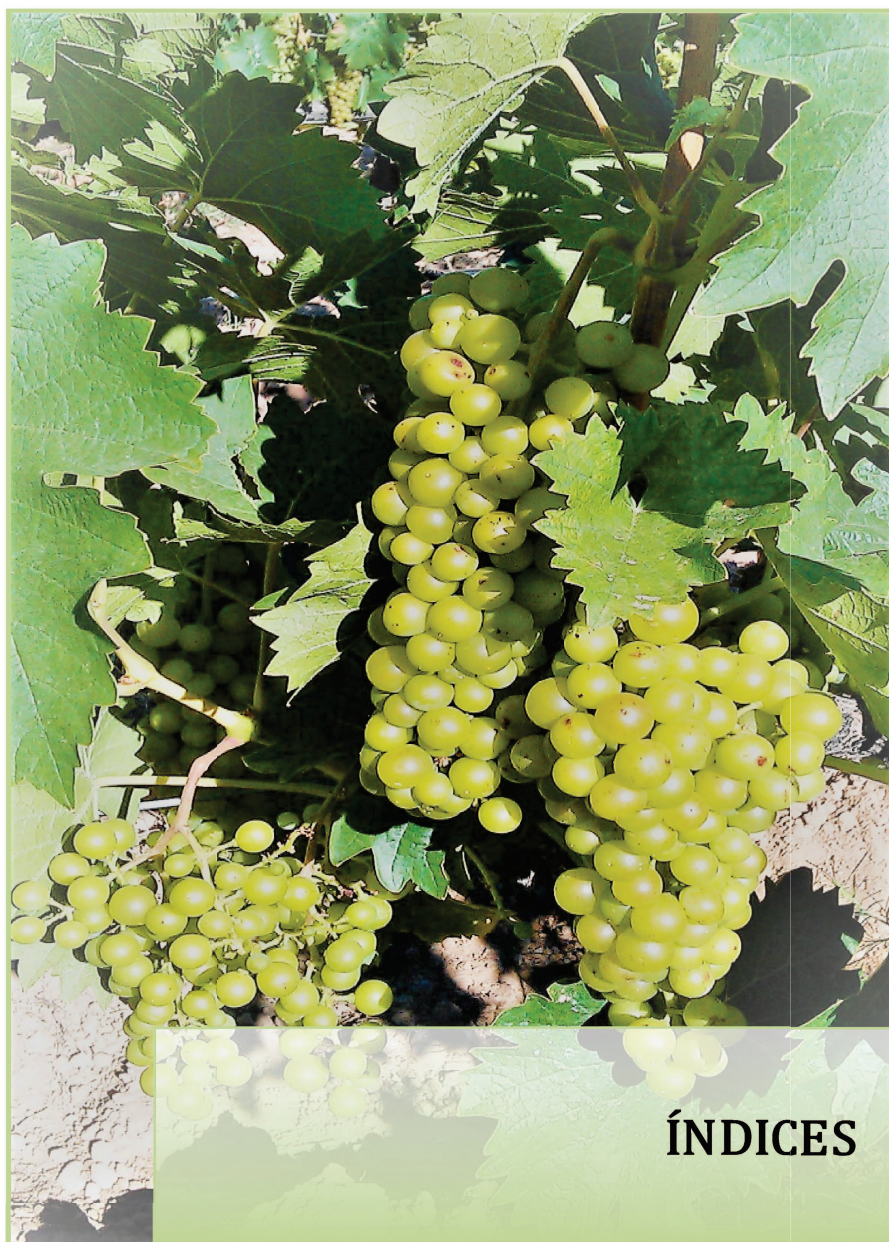
Nacho, mi compi de Corvallis, muchas gracias por tu ayuda y por transmitirme tu energía cuando las cosas se ponen cuesta arriba. Sin ti, ¡Alex no hubiese bailado La Macarena rodeado de “chafas” en la vida! **Andrea**, fue muy divertido conocerte, ¡no conozco a nadie como tú! Gracias por acogernos en L.A.

Gracias a mis amigos/as, Sara, Carlos, Marta, Ruth, Kas...a todos los que habéis escrito la tesis sin leer una sola línea. **Sara**, que paliza te he dado amiga, gracias por estar siempre. Qué bien me habéis venido, vuestra fuerza y apoyo me han ayudado a creer que podía, y lo he conseguido amig@s!. A mis manas, **Marta y Sere**, por estar siempre ahí, sin entender ni una sola palabra pero siempre animándome y haciéndome la vida más fácil, ¡porque así somos las manas!

Alex, contigo se me quedan cortas las palabras, gracias por participar en mi vida, por prestarte a todo, por apoyar mis decisiones y hacer de mis sueños los tuyos, pero sobre todo gracias por tu ilimitada paciencia y ayudarme a crecer y creer que siempre puedo.

Y por último quiero dar las gracias a mi familia, a **mis padres**, a los que les estaré eternamente agradecida por su educación y haberme permitido tomar mis propias decisiones apoyándome incondicionalmente, sois los pilares de mi carrera. **Coco**, gracias por ser mi espectador favorito y ¡mi fan nº1! A mi **hermana**, que bonita eres mana, gracias, gracias y mil gracias por hacer garabatos en mis cuadernos y animarme, junto con **Schuster**, cada día en esta aventura.

Agradezco al Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias (INIA) la financiación del proyecto RTA2011-00095-C02-01 gracias al cual se ha realizado este trabajo, y de la beca predoctoral FPI-INIA 2012 asociada al mismo. Igualmente, al CRDO “Vinos de Madrid”, Bodegas Bernabeleva, Bodegas Luis Saavedra, Bodegas Marañoses y a D. Juan Chorro y D. Ricardo Moreno, viticultores, su colaboración para llevar adelante este estudio.



ÍNDICES

ÍNDICE GENERAL

<i>Página</i>	<i>Sección / Apartados</i>
3-5	I. RESUMEN / ABSTRACT
11	II. ANTECEDENTES Y ESTADO ACTUAL DEL TEMA
11	II.1. SITUACIÓN DEL MERCADO VITIVINÍCOLA
12	II.2. EL CAMBIO CLIMÁTICO
13	II.3. LA IMPORTANCIA DEL AROMA EN EL VINO
19	III. JUSTIFICACIÓN
25-27	IV. OBJETIVOS / OBJECTIVES
33	V. INTRODUCCIÓN
33	V.1. EL VINO EN ESPAÑA
33	V.1.1. Definición y origen
34	V.1.2. Legislación y clasificación de los vinos españoles
38	V.2 EL AROMA DE LA UVA Y DEL VINO
39	V.2.1. Clasificación de los aromas de la uva y el vino
52	V.2.2. Evolución de la madurez aromática de la uva
54	V.2.3. Técnicas analíticas en el estudio de la composición aromática de la uva y el vino
59	V.2.4. Análisis sensorial
59	V3. CAMBIO CLIMÁTICO ASOCIADO A LA VITICULTURA Y ENOLOGÍA
62	V3.1. Efectos sobre la vitivinicultura
66	V3.2. Medidas de adaptación
79	VI. MATERIALES Y MÉTODOS
79	VI.1. PLAN DE TRABAJO
80	VI.2. EXPERIMENTACIÓN EN CAMPO
80	VI.2.1. Características de los viñedos y variedades elegidas
83	VI.2.2. Características climáticas
85	VI.2.3. Prácticas vitícolas. Ejecución del deshojado
86	VI.2.4. Control de fenología, maduración y vendimia
88	VI.3. BODEGA EXPERIMENTAL
88	VI.3.1. Material biológico y productos enológicos
89	VI.3.2. Aparatos e instrumentos
92	VI.3.3. Metodología para las vinificaciones
94	VI.3.4. Empleo de levaduras autóctonas
94	VI.3.5. Crianza sobre lías
95	VI.4. EXPERIMENTACIÓN EN LABORATORIO
95	VI.4.1. Reactivos
97	VI.4.2. Materiales y métodos para el control de la maduración

99	VI.4.3. Evolución del perfil aromático
109	VI.4.4. Materiales y métodos para las microvinificaciones
110	VI.4.5. Otros análisis
110	VI.5. ANÁLISIS SENSORIAL
112	VI.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO
117	VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN
117	VII.1. EFECTO DE LAS FLUCTUACIONES CLIMÁTICAS INTERNANUALES EN LA EVOLUCIÓN DE PRECURSORES GLICOSÍDICOS A LO LARGO DE LA MADURACIÓN EN LAS BAYAS DE cv. MOSCATEL DE GRANO MENUDO
117	VII.1.1. Influencia sobre los parámetros de maduración
120	VII.1.2. Influencia sobre la evolución del Índice de Potencial Aromático Varietal durante la maduración
121	VII.1.3. Influencia sobre el desarrollo de precursores glicosídicos durante la maduración
127	VII.2. INFLUENCIA DE PRÁCTICAS ENOLÓGICAS EN LAS CARACTERÍSTICAS DE MOSTOS Y VINOS cv. MALVASÍA AROMÁTICA
127	VII.2.1. Efecto de la prefermentativa en frío
144	VII.2.2. Empleo de cepas de levaduras autóctonas
156	VII.2.3. Efecto de la crianza sobre lías
177	VII.3. INFLUENCIA DE PRÁCTICAS VITÍCOLAS SOBRE LA MADURACIÓN DE LAS UVAS Y SU RELACIÓN CON LA COMPOSICIÓN VOLÁTIL Y EL PERFIL SENSORIAL DEL VINO EN LA D.O. “VINOS MADRID”
177	VII.3.1 Efecto del deshojado en los cvs. Moscatel de Alejandría, Moscatel de Grano Menudo y Albillo Real
212	VII.3.2. Influencia del sistema de conducción del viñedo en distintos cvs. Albillo Real
237-239	VIII. CONCLUSIONES / CONCLUSIONS
245	IX. BIBLIOGRAFÍA
275	X. ANEXOS
275	ANEXO 1: Abreviaturas
277	ANEXO 2: Rectas calibrado de compuestos volátiles varietales del vino (GC-MS)
278	ANEXO 3: Rectas calibrado de compuestos volátiles mayoritarios del vino (GC-FID)
279	ANEXO 4: Gráfica de seguimiento de las microvinificaciones en el laboratorio

ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS

FIGURAS

Página

37	Figura 1. Mapa D.O. “Vinos de Madrid”.
41	Figura 2. Estructura de los monoterpenos más frecuentes (Conde et al. 2007).
42	Figura 3. Ruta de biosíntesis de terpenos.
42	Figura 4. Ruptura de carotenoides conducente a la formación de C13-norisoprenoides en uvas (Enzell 1985).
43	Figura 5. C13-norisoprenoides más relevantes.
44	Figura 6. Compuestos C6 más destacados.
44	Figura 7. Bencenoides más representativos en uvas y vinos.
45	Figura 8. Principales pirazinas encontradas en uvas y vinos.
46	Figura 9. Principales precursores aromáticos glicosilados de las uvas y sus agliconas en forma de monoglucósidos y diglicósidos.
47	Figura 10. (A) Esquema de hidrólisis de neril- β -d-glucopiranosido a nerol. (B) Formación propuesta de β -damascenona a partir de un precursor glicosídico. (Adaptado de Kinoshita et al. 2010).
49	Figura 11. Ruta de síntesis de tioles volátiles en vinos (Adaptado de Roland et al. 2010).
53	Figura 12. Curva de crecimiento y desarrollo de la baya (Kennedy 2002).
70	Figura 13. De izquierda a derecha viñedos con sistema de conducción en vaso y espaldera.
80	Figura 14. Situación de las parcelas de las variedades Moscatel y Malvasía en la Subzona de Arganda de la D.O. “Vinos de Madrid”.
81	Figura 15. Situación de las parcelas de la variedad Albillo en la Subzona de San Martín de la D.O. “Vinos de Madrid”.
83	Figura 16. Parcelas de la variedad Albillo. De izquierda a derecha: (A) viñedos en espaldera de las fincas La Mina y Navarredonda. (B) viñedos en vaso de las fincas Camacha, Peña Caballera y Lancha de la Osa.
86	Figura 17. Deshojado clásico manual de 8 hojas en enero.
87	Figura 18. Estados fenológicos según Baillod y Baggiolini (Hidalgo 1999).
90	Figura 19. Material para el despalillado, estrujado y prensado de la vendimia.
90	Figura 20. Depósitos de 5L, 12L, 15L, 50L, 100L, 200L de acero inoxidable para macerar, desfangar y fermentar. Frasco de 5L de capacidad para la crianza sobre lías.
90	Figura 21. Depósitos fermentando en bañeras.
91	Figura 22. Equipo de frío y sonda de temperatura para el control de la fermentación.
91	Figura 23. Cámara frigorífica con sistema de nitrógeno en depósitos convencionales de tapa de rosca y sistema de aire comprimido en las tapas de siemprellenos.

- 91 **Figura 24.** Taponadora y llenadora semiautomáticas.
- 98 **Figura 25.** Tomatera.
- 99 **Figura 26.** Filtración con embudo Büchner y sistema Millipore.
- 100 **Figura 27.** AutoTrace SPE.
- 101 **Figura 28.** Turbo vap.
- 102 **Figura 29.** Baño maría con columnas Dufton sobre matraz de destilación.
- 103 **Figura 30.** Condiciones cromatográficas y GC-MS para en el análisis de precursores glicosídicos en uvas.
- 104 **Figura 31.** Sistema de vacío Manifold y cartuchos para SPE.
- 104 **Figura 32 .a)** Kit de reactivos Teknokroma. **b)** Espectrofotómetro UV-Vis.
- 106 **Figura 33.** Condiciones de extracción y análisis por GC-MS empleadas en el análisis de volátiles en vinos.
- 107 **Figura 34.** GC-MS con sistema CombiPal (Oregon State University) y GC-MS sin autosampler.
- 108 **Figura 35.** Condiciones cromatográficas para el análisis de compuestos mayoritarios en vino mediante GC-FID.
- 109 **Figura 36.** Sala termostatzada con balanzas de precisión y fermentadores de 1 L para microvinificaciones.
- 111 **Figura 37.** Ficha para cata descriptiva.
- 112 **Figura 38.** Ficha para cata triangular.
- 118 **Figura 39.** Evolución de la temperatura media (A) y precipitaciones (B) de abril a septiembre en 2013, 2014 y 2015 (estación meteorológica de la Finca “El Encín”)
- 119 **Figura 40.** Análisis de componentes principales de las condiciones climáticas (lluvia antes del envero [AE], lluvia en envero [E] y variación de temperatura [ΔT]) y parámetros físico-químicos en maduración (azúcar, acidez titulable [AT] y pH).
- 121 **Figura 41.** Evolución comparativa del (IPAv) y °Brix durante la maduración en las vendimias 2013, 2014 y 2015. Letras distintas indican diferencias significativas entre semanas de muestreo de acuerdo con el test de Tukey ($p < 0,05$; $n=3$). Ste: semanas tras envero.
- 124 **Figura 42.** Evolución de las familias de compuestos glicosídicos ligados: monoterpenos (A), C13-norisoprenoides (B) compuestos C6 (C), alcoholes (D) y bencenoides (E) durante la maduración en las vendimias 2013, 2014 y 2015. Letras distintas indican diferencias significativas entre cosechas de acuerdo con el test de Tukey ($p < 0,05$; $n=3$). Ste: semana tras envero.
- 126 **Figura 43.** Análisis de componentes principales de las condiciones climáticas (lluvia antes del envero [AE], lluvia en envero [E] y variación de temperatura [ΔT]), parámetros físico-químicos (azúcar, acidez titulable [AT] y pH) y la fracción glicosilada (monoterpenos, C13-norisoprenoides, compuestos C6, alcoholes y bencenoides) de las uvas en maduración.

- 126 **Figura 44.** Análisis de componentes principales de las condiciones climáticas (lluvia antes del envero [AE], lluvia en envero [E] y variación de temperatura [ΔT]), parámetros físico-químicos (azúcar, acidez titulable [AT] y pH) y monoterpenos liberados de las uvas en maduración.
- 129 **Figura 45.** Comparación del IPA_v de mostos Malvasía Aromática antes y después de macerar durante 18h (maceración larga) y 6h (maceración corta) ($p \leq 0,05$; $n=3$).
- 130 **Figura 46.** Comparación del IPA_v de mostos de la variedad Albillo antes y después de macerar durante 18h (maceración larga) y 6h (maceración corta). Letras distintas indican diferencias significativas entre cada grupo de datos ($p \leq 0,05$; $n=3$).
- 130 **Figura 47.** Comparación del IPA_v de mostos de la variedad Moscatel de Grano Menudo antes y después de macerar durante 18h (maceración larga) y 6h (maceración corta). Letras distintas indican diferencias significativas entre cada grupo de datos ($p \leq 0,05$; $n=3$).
- 131 **Figura 48.** Influencia de la maceración pelicular durante 18 (M18) horas sobre la cinética fermentativa de mostos de Malvasía.
- 131 **Figura 49.** Influencia de la maceración pelicular durante 6 horas (M6) sobre la cinética fermentativa de mostos de Malvasía.
- 141 **Figura 50.** A) Fase visual de los vinos Malvasía del ensayo 1: maceración durante 18 h (M18) y sin maceración (C); B) Fase visual de los vinos Malvasía del ensayo 2: maceración durante 6 h (M6) y sin maceración (C).
- 142 **Figura 51.** Fase olfativa del análisis sensorial de los vinos Malvasía del ensayo 1 (A) y del ensayo 2 (B).
- 143 **Figura 52.** Fase gustativa del análisis sensorial de los vinos Malvasía del ensayo 1 (A) y del ensayo 2 (B).
- 145 **Figura 53.** Influencia de la cepa de levadura sobre la cinética fermentativa de mostos Malvasía.
- 148 **Figura 54.** Contribución (%) de cada familia de compuestos volátiles al total en los vinos. (Datos medios de las repeticiones de los depósitos).
- 152 **Figura 55.** Representación gráfica de del ACP de vinos Malvasía con cepas de levaduras CLI 271, CLI 889 y LSA realizado con compuestos aromáticos varietales y mayoritarios. Componentes principales: C1 (31,4%) y C2 (30,8%).
- 152 **Figura 56.** Fase visual de los vinos Malvasía elaborados con las cepas de levaduras CLI 271, CLI 889 y LSA.
- 153 **Figura 57.** Perfiles aromáticos de los vinos Malvasía las cepas de levaduras CLI 271, CLI 889 y LSA.
- 154 **Figura 58.** Perfiles gustativos de los vinos Malvasía las cepas de levaduras CLI 271, CLI 889 y LSA.

- 158 **Figura 59.** Efecto del tratamiento con lías sobre la evolución de la composición volátil de
vinos Malvasía elaborados de forma convencional y con maceración prefermentativa. L:
tratamiento con lías; NL: sin tratamiento con lías. Valores con diferentes letras en la misma
elaboración indican diferencias significativas entre tratamientos (n=3).
- 163 **Figura 60.** Representación gráfica del ACP de vinos Malvasía convencionales (C) y con
maceración prefermentativa 18h (M18) con y sin tratamiento de lías (L). Componentes
principales: C1 (41,2%) y C2 (20,8%).
- 164 **Figura 61.** Efecto del tratamiento con lías sobre la evolución de la composición volátil de
vinos Malvasía elaborados con las cepas de levaduras CLI 271, CLI 889 y LSA. L:
tratamiento con lías; NL: sin tratamiento con lías. Valores con diferentes letras en la misma
elaboración indican diferencias significativas entre tratamientos (n=3).
- 168 **Figura 62.** Análisis de componentes principales (ACP) de vinos Malvasía elaborados con
las cepas CLI 271, CLI 889 y LSA, con y sin tratamiento de lías (L). Componentes
principales: C1 (28,4%) y C2 (23,3%).
- 169 **Figura 63.** Diagrama sensorial de la fase visual y olfativa en vinos de elaboración
convencional (A) y maceración prefermentativa en frío (B) tras 5 meses de crianza en
botella con (L) y sin lías.
- 171 **Figura 64.** Diagrama sensorial de la fase visual y olfativa en vinos elaborados con las cepas
CLI 271(A), CLI 889 (B) y LSA (C) tras 5 meses de crianza en botella con (L) y sin lías.
- 172 **Figura 65.** Diagrama sensorial de la fase gustativa en vinos de elaboración convencional
(A) y maceración prefermentativa en frío (B) tras 5 meses de crianza en botella con (L) y sin
lías.
- 173 **Figura 66.** Diagrama sensorial de la fase gustativa en vinos elaborados con las cepas CLI
271(A), CLI 889 (B) y LSA (C) tras 5 meses de crianza en botella con (L) y sin lías.
- 179 **Figura 67.** Evolución del contenido en azúcares (°Brix), el número de bayas contenidas en
100 g y el peso (g) de 50 bayas durante la maduración de las uvas de la variedad Moscatel
de Alejandría de cepas deshojadas (D) y no deshojadas (ND) en los años 2015 y 2016.
- 181 **Figura 68.** Evolución de los parámetros de pH, acidez titulable (AT), ácido málico, ácido
tartárico y potasio de uvas Moscatel de Alejandría de cepas deshojadas (D) y no
deshojadas (ND) en los años 2015 y 2016.
- 182 **Figura 69.** Evolución del Índice de Madurez Tecnológica (IMT) de uvas Moscatel de
Alejandría de cepas deshojadas (D) y no deshojadas (ND) en los años 2015 y 2016.
- 183 **Figura 70.** Evolución del contenido en azúcares, el número de bayas contenidas en 100 g y
el peso (g) de 50 bayas durante la maduración de las uvas de la variedad Moscatel de
Grano Menudo de cepas deshojadas (D) y no deshojadas (ND) en los años 2015 y 2016.

- 184 **Figura 71.** Evolución de los parámetros de pH, acidez titulable (AT), ácido málico, ácido tartárico y potasio de uvas Moscatel de de Grano Menudo de cepas deshojadas (D) y no deshojadas (ND) en los años 2015 y 2016.
- 185 **Figura 72.** Evolución del Índice de Madurez Tecnológica (IMT) de uvas Moscatel de Grano Menudo de cepas deshojadas (D) y no deshojadas (ND) en los años 2015 y 2016.
- 186 **Figura 73.** Evolución del contenido en azúcares, número de bayas contenidas en 100 g y el peso (g) de 50 bayas durante la maduración de uvas Albillo de cepas deshojadas (D) y no deshojadas (ND) en los años 2015 y 2016.
- 188 **Figura 74.** Evolución de los parámetros de pH, acidez titulable (AT), ácido málico, ácido tartárico y potasio de uvas Albillo de cepas deshojadas (D) y no deshojadas (ND) en los años 2015 y 2016.
- 189 **Figura 75.** Evolución del Índice de Madurez Tecnológica (IMT) de uvas Albillo de cepas deshojadas (D) y no deshojadas (ND) en los años 2015 y 2016.
- 189 **Figura 76.** Evolución de la temperatura media (A) y precipitaciones (B) de abril a octubre en 2015 y 2016 (estación meteorológica de la Finca “El Encín”).
- 190 **Figura 77.** Evolución de la temperatura media (A) y precipitaciones (B) de abril a octubre en 2015 y 2016 (estación meteorológica de Rozas de Puerto Real).
- 194 **Figura 78.** IPAv de uvas Moscatel de Alejandría (A) a lo largo de la maduración con tratamiento de deshojado (D) y sin deshojar.
- 195 **Figura 79.** IPAv de uvas Moscatel de Grano Menudo (MEN) a lo largo de la maduración con tratamiento de deshojado (D) y sin deshojar.
- 195 **Figura 80.** IPAv de uvas Albillo “La Mina” (MIN) a lo largo de la maduración con tratamiento de deshojado (D) y sin deshojar.
- 203 **Figura 81.** Representación gráfica de los dos componentes principales (C1: 47,3% y C2: 11,6%) para vinos obtenidos de uvas de Moscatel de Alejandría (A), Moscatel de Grano Menudo (MEN) y Albillo “La Mina” (MIN) durante las vendimias 2015 y 2016 bajo tratamiento de deshojado (D).
- 205 **Figura 82.** Diagrama sensorial de la fase visual y olfativa de vinos Moscatel de Alejandría con tratamiento de deshojado (AD) y sin deshojado (A) en las vendimias 2015 (A) y 2016 (B).
- 206 **Figura 83.** Diagrama sensorial de la fase gustativa de vinos Moscatel de Alejandría con tratamiento de deshojado (AD) y sin deshojado (A) en las vendimias 2015 (A) y 2016 (B).
- 207 **Figura 84.** Diagrama sensorial de la fase visual y olfativa de vinos Moscatel Grano Menudo con tratamiento de deshojado (MEND) y sin deshojado (MEN) en las vendimias 2015 (A) y 2016 (B).

- 208 **Figura 85.** Diagrama sensorial de la fase gustativa de vinos Moscatel de Grano Menudo con tratamiento de deshojado (MEND) y sin deshojado (MEN) en las vendimias 2015 (A) y 2016 (B).
- 209 **Figura 86.** Diagrama sensorial de la fase visual y olfativa de vinos Albillo de la Finca “La Mina” con tratamiento de deshojado (MIND) y sin deshojado (MIN) en las vendimias 2015 (A) y 2016 (B).
- 210 **Figura 87.** Diagrama sensorial de la fase gustativa de vinos Albillo de la Finca “La Mina” con tratamiento de deshojado (MIND) y sin deshojado (MIN) en las vendimias 2015 (A) y 2016 (B).
- 214 **Figura 88.** Evolución de la temperatura media en los meses de julio y agosto en 2014 y 2015 (estación meteorológica de Rozas de Puerto Real).
- 218 **Figura 89.** Evolución del IPAv y desviación estándar a lo largo de la maduración de las uvas Albillo de los viñedos La Mina (MIN), Lancha de la Osa (LAN), Camacha (CAM), Peña Caballera (PC) y Navarredonda (NAVA) en las campañas 2014 (A) y 2015 (B) (n=2).
- 228 **Figura 90.** Representación gráfica de los dos componentes principales (C1: 31,1% y C2: 25,4%) de los volátiles de vinos Albillo de las fincas La Mina (MIN), Navarredonda (NAVA), Camacha (CAM) y Lancha de la Osa (LAN) en las campañas 2014 y 2015.
- 229 **Figura 91.** Diagrama sensorial de la fase visual y olfativa (A) y gustativa (B) de los vinos Albillo en espaldera (MIN y NAVA) y vaso (CAM) de la campaña 2014.
- 230 **Figura 92.** Diagrama sensorial de la fase visual y olfativa (A) y gustativa (B) de los vinos Albillo en espaldera (MIN y NAVA) y vaso (LAN) de la campaña 2015.
- 279 **Figura 93.** Representación gráfica de la pérdida de peso expresada como ganancia de CO₂ (g) en las fermentaciones a escala laboratorio de las levaduras de estudio en mosto de Malvasía Aromática.

TABLAS

Página

36	Tabla 1. Distribución por subzonas en la D.O. “Vinos de Madrid”.
60	Tabla 2. Necesidades climáticas del viñedo según los periodos de crecimiento (Resco et al. 2014).
84	Tabla 3. Parámetros climáticos durante la estación vegetativa (1 de abril- 30 de octubre) durante los años 2013, 2014, 2015, y 2016 en la estación meteorológica de la Finca “El Encín”, Alcalá de Henares Las temperaturas máximas y mínimas corresponden a las medias mensuales.
85	Tabla 4. Parámetros climáticos durante la estación vegetativa (1 de abril- 30 de octubre) durante los años 2014, 2015, y 2016 en la estación meteorológica de Rozas de Puerto Real (40°18’N, 4°29’W, 882 m altitud, Madrid. Las temperaturas máximas y mínimas corresponden a las medias mensuales.
86	Tabla 5. Resumen de tratamientos por variedad y año. D: deshojado.
95	Tabla 6. Resumen de los vinos elaborados de la variedad Malvasía Aromática con y sin tratamiento de lías en la campaña 2012 y 2013; M18: maceración prefermentativa durante 18h; C: elaboración convencional; L: crianza sobre lías; NL: sin crianza sobre lías.
96	Tabla 7. Descripción de patrones utilizados para los análisis de compuestos volátiles mediante GC-FID y GC-MS.
96	Tabla 8. Relación de patrones internos con sus correspondientes especificaciones y técnica para la que han sido empleados.
118	Tabla 9. Parámetros físico-químicos de las uvas de Moscatel de Grano Menudo en las vendimias 2013, 2014 y 2015 a lo largo de la maduración (media \pm dv; n=3).
125	Tabla 10. Concentraciones medias ($\mu\text{g/L}$) de agliconas volátiles liberadas por hidrólisis enzimática de la fracción glicosilada de Moscatel de Grano Menudo a lo largo de la maduración en 2013, 2014 y 2015 (n=3).
128	Tabla 11. Análisis general de los mostos Malvasía en dos ensayos (E1 y E2) con elaboración convencional (C) y maceración prefermentativa durante 18 horas (M18) y 6 horas (M6) (media \pm dv*) (n=2).
132	Tabla 12. Influencia de la maceración pelicular sobre la velocidad de fermentación. V_{50} : velocidad de consumo del 50% del contenido en azúcar; V_f : velocidad de fermentación (% de azúcar consumido a diario).
132	Tabla 13. Parámetros generales de los vinos del ensayo 1(E1): convencional (C) y maceración en frío durante 18 h (M18) y del ensayo 2 (E2): convencional y maceración 6 h (M6) (media \pm dv*).

- 134 **Tabla 14.** Composición volátil de los vinos Malvasía de los dos ensayos de maceración (E1
y E2) (media \pm dv) (n=3).
- 137 **Tabla 15.** Valores de actividad olfativa (OAV) de los compuestos volátiles con más
influencia en el aroma de los vinos obtenidos de Malvasía procedentes de dos ensayos de
maceración (E1: C-M18; E2: C-M6).
- 139 **Tabla 16.** Resultados del Análisis Componentes Principales para los vinos Malvasía
procedentes del primer ensayo de maceración (C-M18) (cargas factoriales > 0,50000;
Factores 1 y 2).
- 140 **Tabla 17.** Resultados del Análisis Componentes Principales para los vinos Malvasía
procedentes del segundo ensayo de maceración (C-M6) (cargas factoriales > 0,50000;
Factores 1,2 y 3).
- 144 **Tabla 18.** Análisis general del mosto Malvasía (MVS) tras maceración prefermentativa
durante 18 horas antes de ser inoculado con las distintas cepas de levaduras (media \pm dv)
(n=2).
- 146 **Tabla 19.** Parámetros generales de los vinos Malvasía elaborados con distintas cepas de
levadura al finalizar la fermentación
- 146 **Tabla 20.** Concentración ($\mu\text{g/L}$) de compuestos aromáticos varietales en los vinos
elaborados con las cepas CLI 271, CLI 889 y LSA.
- 147 **Tabla 21.** Concentración (mg/L) de compuestos aromáticos mayoritarios en los vinos
elaborados con las cepas CLI 271, CLI 889 y LSA.
- 150 **Tabla 22.** Concentración de los compuestos volátiles analizados en los vinos elaborados
con las cepas CLI 271, CLI 889 (n=3) y LSA (n=1). Agrupación de los compuestos por
familias químicas (media \pm dv).
- 151 **Tabla 23.** Análisis de componentes principales aplicado a los compuestos volátiles de los
vinos Malvasía con cepas de levaduras CLI 271, CLI 889 y LSA.
- 155 **Tabla 24.** Resultados de las pruebas triangulares.
- 156 **Tabla 25.** Compuestos con OAV>1 en los vinos (la concentración de cada compuesto
corresponde a la media de los tres depósitos utilizados por levadura para las CLI 271 y CLI
889, la LSA se realizó en un solo depósito).
- 157 **Tabla 26.** Parámetros generales de los vinos Malvasía elaborados de forma convencional
(C), maceración 18h (M18) y las cepas de levadura CLI 271, CLI 889 y LSA tras crianza con
lías (L) (n=1) y sin lías (n=3) (media \pm dv*).
- 161 **Tabla 27.** Composición volátil de los vinos Malvasía con elaboración convencional (C) y
maceración prefermentativa 18h (M18) con y sin tratamiento de lías (L) (media \pm dv) (n=3).
- 162 **Tabla 28.** Cargas factoriales de los compuestos más relacionados con cada componente
(C1 y C2) del ACP de vinos Malvasía de elaboración convencional y maceración con y sin
tratamiento de lías.

- 167 **Tabla 29.** Composición volátil de los vinos Malvasía con distintas levaduras: CLI 271, CLI 889 y LSA; con y sin tratamiento de lías (L) (media \pm dv) (n=3).
- 176 **Tabla 30.** Compuestos con OAV>1 de los vinos convencional y maceración prefermentativa y elaborados con las cepas CLI 271, CLI 889 y LSA; con y sin tratamiento de lías (L).
- 192 **Tabla 31.** Composición química de mostos de las variedades Moscatel de Alejandría (A), Moscatel de Grano Menudo (MEN) y Albillo (MIN) en las vendimias 2015 (15) y 2016 (16) con y sin tratamiento de deshojado (D).
- 193 **Tabla 32.** Composición química vinos de las variedades Moscatel de Alejandría (A), Moscatel de Grano Menudo (MEN) y Albillo (MIN) en las vendimias 2015 (15) y 2016 (16) con tratamiento de deshojado (D) y sin deshojado (media \pm dv) (n=3).
- 197 **Tabla 33.** Concentraciones de compuestos aromáticos varietales (μ g/L) en vinos de Moscatel de Alejandría (A) (a), Moscatel de Grano Menudo (MEN) (b) y Albillo (MIN) (c) en la vendimia 2015 con tratamiento de deshojado (D) y sin deshojado (media \pm dv) (n=3).
- 199 **Tabla 34.** Concentraciones de compuestos aromáticos mayoritarios (mg/L) en vinos de Moscatel de Alejandría (A) en las vendimias 2015 y 2016 con tratamiento de deshojado (D) y sin deshojado (media \pm dv) (n=3).
- 200 **Tabla 35.** Concentraciones de compuestos aromáticos mayoritarios (mg/L) en vinos de Moscatel de Grano Menudo (MEN) en las vendimias 2015 y 2016 con tratamiento de deshojado (D) y sin deshojado (media \pm dv) (n=3).
- 201 **Tabla 36.** Concentraciones de compuestos aromáticos mayoritarios (mg/L) en vinos de Albillo (MIN) en las vendimias 2015 y 2016 con tratamiento de deshojado (D) y sin deshojado (media \pm dv) (n=3).
- 202 **Tabla 37.** Resultados del ANOVA de tres factores calculado para compuestos aromáticos mayoritarios siendo los factores año (2015, 2016), variedad (A, MEN, MIN) y tratamiento (deshoje, no deshoje) con sus interacciones.
- 216 **Tabla 38.** Composición de las uvas a lo largo de la maduración (pH, acidez titulable expresada en g/L de ác. Tartárico (AT), azúcar ($^{\circ}$ Brix), índice de madurez tecnológica (IMT), potasio (K), ácido málico (MH₂) y ácido tartárico (TH₂) expresados en g/L) de 5 cultivos de Albillo (NAVA, MIN, LAN, PC y CAM) en espaldera (E) y vaso (V) en 2014 y 2015 (n=3) (media \pm dv).
- 220 **Tabla 39.** Composición química de mostos y vinos Albillo de los viñedos con sistema de conducción en espaldera (E) y en vaso (V) en las campañas 2014 y 2015 (media \pm dv) (n=3).
- 221 **Tabla 40.** Resultados del ANOVA de dos factores calculado para los parámetros enológicos de mostos y vinos Albillo con distinto sistema de conducción siendo los factores año (2014, 2015), sistema de conducción (vaso y espaldera) con su interacción (año*SC).

- 224** **Tabla 41.** Composición volátil de los vinos Albillo de viñedos con sistema de conducción en espaldera (E) y en vaso (V) en las campañas 2014 y 2015 (media \pm dv) (n=3).
- 226** **Tabla 42.** Valores de actividad olfativa (OAV) y con los descriptores aromáticos de los compuestos que contribuyen de forma activa en el aroma de los vinos MIN, NAVA, CAM y LAN.
- 227** **Tabla 43.** Análisis de componente principales aplicado a los compuestos volátiles de los vinos Albillo de las fincas La Mina (MIN), Navarredonda (NAVA), Camacha (CAM) y Lancha de la Osa (LAN) en las campañas 2014 y 2015.
- 277** **Tabla 44.** Ecuaciones de las calibraciones para cada compuesto volátil y su valor de R^2 para el método HS-SPME/GC-MS con inyección automática (A) e inyección manual (B)
- 278** **Tabla 45.** Ecuaciones de las calibraciones para cada compuesto volátil y su valor de R^2 para el método LPE/GC-FID.



I.

RESUMEN
ABSTRACT

Los factores climáticos como las temperaturas y precipitaciones están estrechamente relacionados con la industria vitivinícola. El aumento progresivo de las temperaturas y la escasez de lluvias podrían afectar al correcto desarrollo de la maduración de las uvas alterando la composición química del mosto comprometiendo las características organolépticas de los vinos resultantes. Entre los efectos más destacados relacionados con las variaciones del clima, se encuentran los tiempos de maduración más cortos, el aumento de la concentración de azúcar y niveles de pH en las bayas, mostos con menor acidez y vinos de escasa intensidad aromática. En los últimos años, ha crecido el interés de los viticultores y enólogos locales por la obtención de vinos únicos de carácter diferenciador, haciendo necesaria la búsqueda de prácticas alternativas que puedan dar lugar a vinos de mayor personalidad e intensidad aromática.

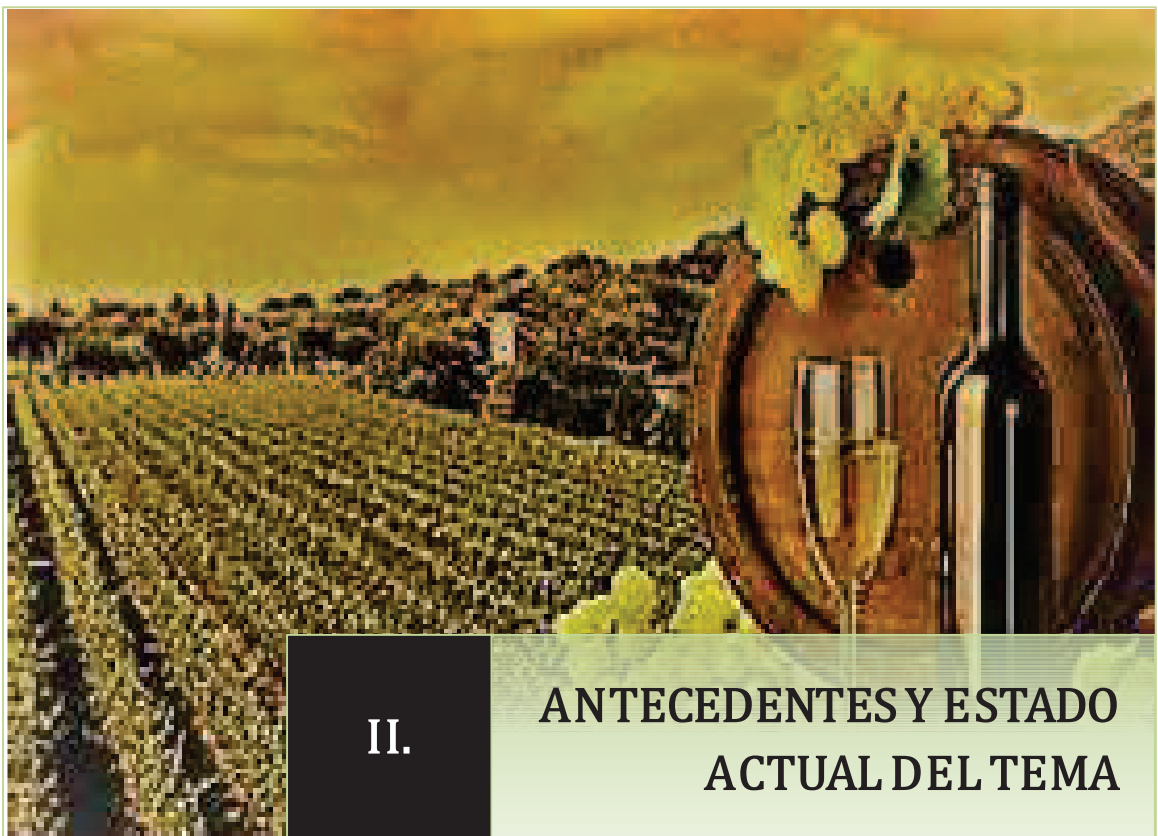
Este trabajo se ha centrado en la evaluación de los posibles efectos de las variaciones del clima sobre la elaboración de vinos blancos en la D.O. “Vinos de Madrid” y en la búsqueda de técnicas vitícolas y enológicas para recomendar su empleo como posible herramienta frente a los retos que plantea el cambio climático con el objetivo mejorar la calidad del producto. Para alcanzarlo, se ha estudiado la evolución de precursores aromáticos en uvas blancas y el efecto de distintas alternativas tecnológicas y culturales capaces de mejorar la riqueza aromática y sensorial de los vinos de la D.O. “Vinos de Madrid”. La influencia de estas técnicas han sido ensayadas en distintos cultivares. Así, determinamos la evolución de precursores aromáticos en uvas del cv. Moscatel de Grano Menudo, evaluamos el empleo de maceración prefermentativa en frío, empleo de levaduras autóctonas y crianza sobre lías en Malvasía Aromática como variedad experimental (prácticas enológicas) y valoramos el efecto del deshojado y distintos sistemas de conducción (prácticas vitícolas) en los cvs. Moscatel de Alejandría (también como varietal experimental), Moscatel de Grano Menudo y Albillo Real (variedades existentes en la D.O. “Vinos de Madrid”).

Los resultados finales mostraron que el año con temperaturas más suaves y precipitaciones durante el invierno dio lugar a mostos con mayor potencial aromático varietal y niveles favorables de pH y acidez. La elaboración con maceración prefermentativa y posterior tratamiento de lías resultó una técnica interesante para la mejora de las características organolépticas de los vinos del cv. Malvasía Aromática. Los ensayos con levaduras autóctonas mejor adaptadas y seleccionadas en la D.O. “Vinos de Madrid” revelaron que pueden servir para la elaboración de vinos de calidad del cv. Malvasía Aromática. La cepa de levadura CLI 889 destacó por el carácter floral y afrutado de sus vinos. El deshojado retrasó la maduración tecnológica y aromática en el cv. Moscatel de Alejandría favoreciendo un incremento de aromas varietales. El viñedo con sistema de conducción en espaldera (cordón bilateral) con mejores condiciones de aireación e iluminación, dio lugar a vinos de mayor calidad sensorial en el cv. Albillo Real.

Climatic factors such as temperatures and precipitation are closely related to the wine industry. The progressive increase of temperatures and the decrease of rainfalls could affect the successful process of ripening modifying chemical composition of the must and ultimately compromising wine sensory properties. Among the most important climate change-related effects reported on viticulture are earlier harvest times, higher sugar concentrations and pH levels in berries, lower acidity in must and wines with low aroma intensity. Winemakers show an increasing interest on the obtaining of unique and distinctive aromatic wines, making necessary the searching of alternative practices that could give place to wines with greater aroma intensity and personality.

This work has focused on the evaluation of possible effects of seasonal climate on the elaboration white wines in the Spanish winemaking D.O. "Vinos de Madrid" and in the search of viticultural and oenological practices to recommend their use as potential tools to deal with climate change-related effects with the aim of improve wine quality. Different technological and cultural alternatives have been studied together with the evolution of aromatic precursors in white grapes in order to improve the aroma intensity and sensory properties of wines elaborated in the Origin Appellation (D.O.) "Vinos de Madrid". The effect of the techniques referred has been assayed in different aromatic grapevine cultivars. Thus, we determined the evolution of aroma precursors on cv. Moscatel de Grano Menudo, also evaluate the use of low-temperature skin-contact treatment, the use of autochthonous-selected yeasts strains and contact with lees on cv. Malvasía Aromática as experimental variety (oenological practices) and assess the effect of leaf removal and alternative trellis systems (viticultural practices) on cvs. Moscatel de Alejandría (also as experimental variety), Moscatel de Grano Menudo and Albillo Real (already existing in the D.O. "Vinos de Madrid").

Our results showed that a year with milder temperatures and rainfall during veraison gave place to musts with greater varietal aromatic potential and favorable levels of pH and acidity, winemaking using skin-contact treatment at low temperature and the subsequent treatment of the wine with lees may be an interesting technique to improve the overall organoleptic properties of Malvasía wines. The assay of native yeasts selected in the D.O. "Vinos de Madrid" revealed that they can generate high-quality wines from cv. Malvasía aromática. As an example, wines obtained with the strain CLI 889 was qualified as more floral and fruity. Leaf removal induced the delay of technological and aroma ripening in cv. Muscat of Alexandria, as well as the increase of varietal aroma compounds. The bilateral cordon trellis system, with improved air circulation and sunlight radiation, gave place to wines with greater sensory quality in cv. Albillo Real.



II.

ANTECEDENTES Y ESTADO
ACTUAL DEL TEMA

II.1. SITUACIÓN DEL MERCADO VITIVINÍCOLA ACTUAL

De acuerdo con los datos recogidos por la Organización Internacional de la Viña y el Vino (OIV) en 2015, la superficie vitícola mundial se sitúa en 7,5 millones de has, que produjeron 76 millones de toneladas de uva. La producción mundial de vino (excluyendo zumos y mostos) aproximada en 2016 fue de 259 millones de hectolitros y el consumo calculado en 2015 estuvo en torno a 240 millones de hl (OIV 2016).

La mitad de la superficie total de viñedo corresponde a cinco países, donde España, con más de 1 millón de ha, sigue siendo el primer país del ranking mundial seguida de China y Francia con 0,83 y 0,78 millones de ha respectivamente e Italia y Turquía con 0,68 y 0,49 millones de has. La superficie vitícola china ha ido en continuo crecimiento desde el año 2011 hasta situarse en segundo lugar en el viñedo mundial. En cambio, los viñedos de la Unión Europea han ido reduciéndose ligera y progresivamente (34.000 ha menos entre 2014 y 2015).

En cuanto a la producción de uvas, desde el año 2000 se ha observado un aumento del total de la producción donde los países europeos han ido perdiendo peso pasando de un 53% al 40% de la producción mundial. China, con más de 12 millones de toneladas en 2015, es el primer productor (17% de la producción mundial) seguido de Italia (8,2 millones), Estados Unidos (7 millones/t) y Francia (6,3 millones/t). España se encuentra en quinto lugar con 6 millones/t.

Según el Observatorio Español del Mercado del Vino (OEMV), durante el periodo 2015-2016, el consumo nacional de vino aumentó hacia los 1000 millones de litros, clasificándose, junto con Argentina, como séptimo mayor consumidor mundial tras EEUU, Francia, Italia, Alemania, China y Reino Unido. No obstante, durante este mismo período, España se situó en la tercera posición como productor, con 37,8 millones de hectólitros (OIV 2016). Durante la cosecha de 2016, la producción mundial de vino decreció en 15 millones/hl con respecto a 2015, de acuerdo con datos de la OIV, estuvo entre los niveles de producción más bajos de los últimos 20 años.

En el año 2015, el comercio mundial de vino había experimentado un aumento del 1,9% en volumen total (104,3 millones/hl) y, sobre todo, en valor, del 10,6% (28.300 millones de euros) con respecto a 2014. España, es el exportador que más crece en términos de volumen. Junto con Italia y Francia dominan más de la mitad del mercado mundial del vino. Hasta abril de 2016, las exportaciones españolas de vino aumentaron su facturación un 3,9% hasta los 812,4 millones de euros. El mercado muestra la tendencia hacia una creciente internacionalización. En el año 2000, el 27% del vino consumido era importado, mientras que actualmente esta cuota representa más del 43%, datos que demuestran la tendencia al consumo fuera del país de origen.

Todo ello, manifiesta la importancia de España a nivel mundial en el sector vitivinícola. Ocupar el primer puesto en el ranking por superficie plantada, el tercer lugar como productor y el primer exportador mundial en términos de volumen acredita la importancia económica de este sector y la relevancia que tiene el vino en nuestro país.

II.2. EL CAMBIO CLIMÁTICO

La Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA) define el cambio climático como “cualquier variación global significativa del clima de la Tierra con una duración prolongada en el tiempo”. En otras palabras, el cambio climático incluye cambios importantes en la temperatura, la precipitación y los patrones de viento, entre otros efectos, que se producen durante varias décadas o más.

El cambio climático se ha convertido en uno de los mayores retos globales a combatir debido a que se presupone como una amenaza ambiental, social y económica. En las últimas décadas, el crecimiento de la población y de los niveles promedio de consumo individual provocados por el desarrollo tecnológico, han generado un vertiginoso incremento de la demanda de todo tipo de recursos que está causando impactos globales sobre el planeta. Uno de estos impactos es el incremento de las emisiones de los gases de efecto invernadero (GEI) que han contribuido a un calentamiento totalmente inusual durante los últimos 150 años debido a la retención del calor del Sol en la atmósfera de la Tierra (Nakicenovic & Swart 2000; Stott et al. 2001). Entre estos gases se encuentran el dióxido de carbono, el óxido nitroso y el metano, que son liberados por la industria, la agricultura y la combustión de combustibles fósiles. El mundo industrializado ha conseguido que la concentración de estos gases haya aumentado un 30% desde el siglo pasado, cuando, sin la actuación humana, la naturaleza se encargaba de equilibrar las emisiones. Cerca del 25% de las emisiones de dióxido de carbono proceden de cambios en la explotación agraria (sobre todo de la deforestación en las zonas tropicales) y la utilización de fertilizantes es uno de los orígenes principales de los óxidos nitrosos producidos por el hombre (FAO 2002).

Durante el último siglo, las concentraciones atmosféricas de CO₂ aumentaron de un valor preindustrial de 278 ppm a más de 379 ppm, al tiempo que, la temperatura media global aumentó en 0,74 °C de acuerdo con el Quinto Informe de evaluación del Panel Intergubernamental sobre Expertos del cambio climático (Pachauri & Reisinger 2007). Desde la década de los 70 del siglo XX, las temperaturas en España han ido aumentando con una magnitud algo superior a la media global del planeta. Este aumento ha sido más acusado durante el invierno, además, las precipitaciones durante este periodo han ido tendiendo a la baja (OECC 2006).

Según previsiones de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), las emisiones anuales de óxido nitroso procedente de la agricultura aumentarán en un 50%, las concentraciones globales de dióxido de carbono en la atmósfera pasarán de 350 ppm a 400 ppm y la temperatura global aumentará entre 0,5 °C y 1 °C para 2030.

La agricultura es extremadamente vulnerable al cambio climático. El aumento de las temperaturas termina por reducir la producción de los cultivos deseados, a la vez que provoca la proliferación de malas hierbas, enfermedades y plagas. Los cambios en los regímenes de lluvias aumentan las probabilidades de fracaso de las cosechas a corto plazo y reducen la producción a largo plazo. Aunque algunos cultivos en ciertas regiones del mundo puedan verse beneficiados, en general, se espera que los impactos del cambio climático sean negativos para la agricultura, amenazando la seguridad alimentaria mundial (Nelson et al.

2009). Todo ello obligaría a los agricultores al empleo de nuevas prácticas agrícolas alternativas como respuesta a la modificación de las condiciones climáticas.

II.3. LA IMPORTANCIA DEL AROMA DEL VINO

El comportamiento del consumidor de vino ha ido evolucionado a lo largo del tiempo. Actualmente, requiere productos de alta calidad, pide conocer el origen de la materia prima así como los tratamientos y tecnologías utilizadas para la elaboración. Aunque ciertos sectores de la población tienen sus gustos muy definidos y siguen optando por productos tradicionales, la tendencia general del consumidor, más receptivo que nunca y creciente, se dirige hacia la demanda de nuevos productos de calidad diferenciadora.

El sector del vino se enfrenta a nuevas oportunidades de mercado debido a la creciente liberalización y globalización del comercio, a las que hay que unir mayores retos, como la mayor competencia y el descenso del consumo en los países productores tradicionales. En consecuencia, el objetivo principal que persigue el mundo de la viticultura y enología es la elaboración de un producto de calidad que presente una identidad propia para el consumidor. En esta línea, se proponen nuevas técnicas vitícolas y enológicas para potenciar los principales factores de elección de los consumidores. Entre los muchos elementos que contribuyen a la calidad y tipicidad del vino, el aroma es probablemente la característica organoléptica más importante y una propiedad clave para los consumidores (Perestrelo et al. 2006). Para producir un vino de calidad, resulta indispensable comprender las características que poseen las diferentes variedades de uvas y cómo ellas pueden expresarse convenientemente en los vinos (Belancic & Agosin 2007). Aún cuando una variedad particular se encuentre en zonas geográficas diferentes y sea vinificada empleando distintas técnicas, el vino producido poseerá ciertas cualidades innatas a la personalidad de la variedad. Conocer las características que una variedad en particular puede aportar en el proceso de vinificación es esencial para producir vinos de calidad. Como consecuencia de esto, el estudio de los aromas específicos (posible gracias a los avances tecnológicos y científicos actuales) que permite diferenciar las variedades entre sí, es un tema prioritario desarrollado por diversos grupos de investigación.



III.

JUSTIFICACIÓN

El trabajo que ha dado lugar a la realización de esta tesis se justifica principalmente por la reciente demanda de productos de mayor calidad como consecuencia de un mercado cada vez más exigente y competitivo que apuesta por vinos personales, de carácter propio y diferenciador. El cambio climático, junto con el cambio en los patrones de consumo, es otro de los grandes retos a los que se enfrenta la vitivinicultura en la actualidad. La variación del clima podría alterar la viticultura desplazando el equilibrio existente entre clima, suelo y prácticas de manejo, produciéndose cambios en la calidad y conducción del cultivo. Además, podría provocar cambios en la localización del viñedo, permitiendo su expansión a zonas actualmente más frías. El aumento progresivo de las temperaturas, olas de calor, incendios y sequías entre otros factores, pueden influir sobre el viñedo alterando las características de los vinos resultantes. La D.O. “Vinos de Madrid”, situada en el centro de España, se caracteriza por condiciones climáticas específicas (veranos cálidos, inviernos fríos y bajos niveles de lluvia) siendo una de las regiones que pueden verse afectadas por las variaciones del clima que podrían comprometer el correcto desarrollo de la maduración tecnológica y aromática de las uvas no favoreciendo la obtención de vinos blancos aromáticos intensos. Por todo ello, con el fin de ayudar a la adaptación del viñedo y preservar la calidad organoléptica de la uva y el vino, el sector vitivinícola apuesta por la aplicación de nuevas prácticas vitícolas y enológicas alternativas, y entre ellas, el empleo de nuevas variedades distintas a las tradicionales que ayuden a mejorar la calidad de los vinos de una determinada región. Además, la búsqueda de vinos ligados a zonas con variedades propias para evitar perder las características típicas de los vinos tradicionales, ha incrementado el interés por potenciar el empleo de variedades autóctonas minoritarias fomentando aquellas que aporten calidad diferenciadora a los vinos de la D.O. “Vinos de Madrid”.

El trabajo desarrollado en la búsqueda de alternativas enológicas para mejorar la riqueza aromática de los vinos blancos de la región elaborados a partir de la variedad Malvasía Aromática, se inició con el Proyecto RTA2011-00095-C02-01 “Caracterización enológica de variedades no tradicionales en la D.O. “Vinos de Madrid”. Utilización de sensores electrónicos portátiles en el control de la elaboración de vinos.



IV.

**OBJETIVOS
OBJECTIVES**

El objetivo principal de la tesis es la evaluación del empleo de estrategias vitícolas y enológicas alternativas para ayudar a mejorar las características organolépticas de los vinos blancos de la D.O. “Vinos de Madrid” y conseguir herramientas para hacer frente a los efectos del cambio climático determinando la evolución y calidad aromática de las variedades de vid ensayadas: Malvasía Aromática y Moscatel de Alejandría, como variedades experimentales, y Moscatel de Grano Menudo y Albillo Real, como variedades autorizadas en la D.O.

Para ello, se plantearon una serie de objetivos específicos que pueden dividirse en dos grupos: (I) los relativos al estudio de los efectos de las variaciones del clima sobre la calidad de la uva y el empleo de prácticas vitivinícolas como estrategia para combatir los posibles efectos del cambio climático sobre el viñedo y por consiguiente, sobre la calidad de la uva y el vino y (II) los relativos al estudio del potencial enológico de variedades minoritarias en la búsqueda del carácter distintivo de los vinos de la D.O. “Vinos de Madrid”.

- I. Objetivos relativos a mitigar los posibles efectos del cambio climático.
 1. Estudio de la evolución de precursores aromáticos de la variedad Moscatel de Grano Menudo a lo largo de la maduración para determinar los posibles efectos de las predicciones del cambio climático sobre el perfil aromático de las uvas.
 2. Empleo de prácticas enológicas como posible estrategia de protección y mejora de la calidad organoléptica de los vinos blancos del cv. Malvasía Aromática.
 3. Estrategias vitícolas para tratar de favorecer la adaptación del viñedo a los posibles efectos del cambio climático y preservar el correcto desarrollo de la uva en las variedades Moscatel de Alejandría, Moscatel de Grano Menudo y Albillo Real.
- II. Objetivos relativos al estudio de variedades minoritarias para la mejora de los vinos de la D.O. “Vinos de Madrid”.
 1. Evaluar las características de la variedad minoritaria tradicional de la Comunidad de Madrid Albillo Real, bajo diferentes condiciones de cultivo determinando, a lo largo de la maduración, el contenido aromático global, así como la calidad de los vinos resultantes.

The main objective of this Thesis is the evaluation of the use of alternative viticultural and enological strategies to improve the organoleptic properties of the white wines of the D.O. "Vinos de Madrid" by facing the effects of climate change through the determination of evolution and quality aroma profile of four grape varieties: Malvasía Aromática, Moscatel de Alejandría (experimental varieties) Moscatel de Grano Menudo and Albillo Real, (varieties already authorized in the D.O. "Vinos de Madrid").

To do this, a number of specific objectives were proposed and can be divided into two groups: (I) Those related to the study of the effects of climate variations on grape quality and the use of effective practices to face the projected effects of climate change on the vineyard (and hence on the quality of the grapes and wine), and (II) the evaluation of the winemaking potential of minor varieties to add distinctiveness in wines of D.O. "Vinos de Madrid".

- I. Objectives related to face the likely climate change-related effects.
 1. Evaluation of the evolution of aroma precursors from cv. Moscatel de Grano Menudo along the ripening period to determine the possible effect of climate change predictions on the grape aroma profile.
 2. Use of winemaking practices as strategies to protect and improve the organoleptic quality of cv. Malvasía Aromática wines.
 3. Use of viticultural practices to ease the vineyard to the possible climate change-related effects, in order to preserve an adequate development and ripening of cvs. Moscatel de Alejandría, Moscatel de Grano Menudo and Albillo Real grapes.
- II. Objective related to the evaluation of minor varieties to improve the quality of D.O. "Vinos de Madrid" wines.
 1. Evaluate the characteristics of the traditional minor variety Albillo Real in the Comunidad de Madrid region (Madrid, Spain) under different growing conditions, determining aroma potential along the ripening process as well as the quality of the final wines.



V.

INTRODUCCIÓN

V.1. EL VINO EN ESPAÑA

V.1.1. Definición y origen

De acuerdo con el B.O.E. del 11 de julio de 2003, el vino se define como: “el alimento natural obtenido por fermentación alcohólica, total o parcial, de uva fresca, estrujada o no, o de mosto de uva”. El vino ha sido y es un componente esencial de la dieta cotidiana, hoy en día está recogido como uno de los alimentos que forman la pirámide de los alimentos que propone la Guía de la Alimentación Saludable de la Sociedad Española de Nutrición Comunitaria (Dapcich et al. 2004).

Los historiadores sitúan el origen del vino en Oriente Próximo donde se han encontrado restos de vasijas datadas entorno a los años 6.000 y 8.000 a.C. La mayoría de los pueblos de la Antigüedad otorgaron al vino propiedades divinas y le hicieron un hueco en su mitología: los egipcios se lo atribuyeron a Osiris (dios de la resurrección); los griegos le entregaron a Dionisio (dios del vino); e incluso los judíos consideraban a Noé como primer viticultor. El apogeo de su expansión se alcanzó a través del Imperio Romano y se potenció con el Cristianismo (Standage & Dols Gallardo 2006).

En España, sin embargo, el origen del vino no está claro. Todo indica que fueron los pueblos fenicios, griegos y romanos los que introdujeron la vid en la península. Existen hallazgos que muestran que el lagar más antiguo del que se posea referencia se sitúa en una colonia fenicia cerca de Cádiz. Pudieron ser estos mismos los que trajeron consigo las técnicas de cultivo y producción, e incluso las cepas más adecuadas. Griegos, púnicos y romanos, consolidaron esta industria, hasta el punto de ser conocida por todo el Mare Nostrum gracias a sus caldos “Vinos de Hispania” (Blázquez 2011). Con la caída del Imperio Romano la viticultura se vio gravemente afectada. Es en la Edad Media cuando vuelve a tomar auge como símbolo del Cristianismo. A partir de ese momento la vid pasa a ser preocupación de los eclesiásticos. Con el tiempo, los viñedos de los monasterios se expandieron hasta alcanzar las cuencas del Duero y Ebro, y las zonas del entorno del Camino de Santiago. Así, comenzó a desarrollarse una producción vitícola que en la actualidad es considerada como una de las mejores nivel mundial.

A finales del siglo XIX, se produce una etapa de fuerte depresión del sector vitivinícola. Los esfuerzos para superar las consecuencias de la filoxera que comenzó en Francia y se extendió al resto de Europa, las crisis económicas causadas por las guerras y la lucha por evitar imitaciones y competencia desleal de los productos, dieron lugar al desarrollo de la legislación vitícola. De esta forma nació el sistema francés de denominaciones de origen (AOC, Appellation D'origine Contrôlée) y las reglamentaciones que se han inspirado en él en casi todo el mundo. Las primeras Denominaciones autorizadas en España fueron aprobadas en 1932, y se trata de Jerez-Xères-Sherry, Manzanilla de Sanlúcar de Barrameda, Málaga, Montilla-Moriles, Rioja, Tarragona, Priorato, Alella, Utiel Requena, Valencia, Alicante, Ribeiro, Cariñena, Penedés, Condado de Huelva, Valdepeñas, La Mancha, Navarra y Rueda.

V.1.2. Legislación y clasificación de los vinos españoles

En el mercado existe una gran riqueza y variedad de productos, pero cuando un producto adquiere cierta reputación se puede encontrar con usurpaciones e imitaciones que desalientan al productor y engañan al consumidor. Por ello, existen unos sistemas conocidos como DOP e IGP (Denominación de Origen Protegida e Indicación Geográfica Protegida) para proteger la calidad de origen de los productos agroalimentarios. Las DOP e IGP constituyen el sistema utilizado en nuestro país para el reconocimiento de una calidad diferenciada, consecuencia de características propias debidas al medio geográfico en el que se producen las materias primas, se elaboran los productos, y a la influencia del factor humano que participa en las mismas.

El Reglamento (CE) 1151/2012 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 21 de noviembre de 2012, sobre los regímenes de calidad de los productos agrícolas y alimenticios, establece las definiciones de DOP e IGP.

El Reglamento (CE) 479/2008 (DOUE L 148, de 6-06-2008, Pág. 1), estableció la organización común del mercado (OCM) vitivinícola e implantó una nueva regulación para los nombres geográficos de vinos, desapareciendo los VCPRD (vinos de calidad producidos en regiones determinadas), e incorporando las DOP (denominación de origen protegida) e IGP (indicación geográfica protegida). Actualmente, el reglamento en vigor de los productos vitivinícolas es el Reglamento (UE) 1308/2013 del Parlamento Europeo y del Consejo por el que se crea la organización común de mercados de los productos agrarios (DOUE L 347 de 20.12.2013), donde queda incluida la regulación de los productos vitivinícolas amparados por una figura de calidad (Artículos 92 a 111).

Vinos con D.O.P.: vinos cuya calidad y características son esencialmente o exclusivamente debidas a su origen geográfico, con sus factores humanos y culturales inherentes. Estos vinos poseen una calidad, reputación u otras características específicas atribuibles a su origen geográfico. El 100% de las uvas de variedades vnicas pertenecientes a *Vitis vinífera*, proceden exclusivamente de la zona geográfica de producción y su elaboración tiene lugar dentro de la zona geográfica.

Vinos con IGP: vinos que poseen una calidad, reputación u otras características específicas atribuibles a su origen geográfico. Al menos el 85% de las uvas procede exclusivamente de la zona geográfica y su elaboración tiene lugar en el área geográfica. Estos vinos se pueden obtener de variedades vnicas pertenecientes a *Vitis vinífera* y a otras especies del género *Vitis*.

La Ley 6/2015, de 12 de mayo, de Denominaciones de Origen e Indicaciones Geográficas Protegidas de ámbito territorial supraautonómico (BOE 13-05-2015) regula los términos tradicionales que indican que el vino está acogido a una DOP o IGP:

En las D.O.P.:

- Vino de Pago”:

a) La zona geográfica de la DOP deberá ser un pago, entendiendo por tal, el paraje o sitio rural con características edáficas y de microclima propias que lo diferencian y distinguen de otros de su entorno,

conocido con un nombre vinculado de forma tradicional y notoria al cultivo de los viñedos de los que se obtienen vinos con rasgos y cualidades singulares y cuya extensión máxima será limitada reglamentariamente por la Administración competente, de acuerdo con las características propias de cada Comunidad Autónoma, sin que pueda ser igual ni superior a la de ninguno de los términos municipales en cuyo territorio o territorios, si fueren más de uno, se ubique.

Se entiende que existe vinculación notoria con el cultivo de los viñedos, cuando el nombre del pago venga siendo utilizado de forma habitual en el mercado para identificar los vinos obtenidos en aquél durante un período mínimo de cinco años.

b) Los vinos deberán ser elaborados y embotellados por las personas físicas o jurídicas que, por sí mismas o por sus socios, ostenten la titularidad de los viñedos ubicados en el pago o con carácter excepcional y en los supuestos que la Administración competente lo autorice reglamentariamente, en bodegas situadas en la proximidad del pago que, en todo caso, deberán estar situadas en alguno de los términos municipales por los cuales se extienda el vino de pago o en los colindantes.

c) Toda la uva que se destine a estos vinos deberá proceder de viñedos ubicados en el pago y el vino deberá elaborarse, almacenarse y, en su caso, criarse de forma separada de otros vinos.

d) En la elaboración de los vinos de pago se implantará un sistema de calidad integral, que se aplicará desde la producción de la uva hasta la puesta en el mercado de los vinos. Este sistema deberá cumplir, como mínimo, los requisitos establecidos para las Denominaciones de Origen Calificadas.

- “*Denominación de Origen Calificada*” (D.O.Ca.), además de los requisitos exigibles a las denominaciones de origen, debe cumplir los siguientes:

a) La DOP en cuestión deberá haber utilizado obligatoriamente en sus vinos el término tradicional «denominación de origen» durante, al menos, 10 años.

b) Los vinos deberán comercializarse exclusivamente embotellados desde bodegas inscritas en el órgano de gestión de la DOP y ubicadas en su zona geográfica delimitada.

c) Los exámenes analíticos y organolépticos, incluidos en la comprobación anual sobre la DOP, deberán realizarse de forma sistemática, por lotes homogéneos de volumen limitado.

d) Las bodegas inscritas en el órgano de gestión de la DOP, que habrán de ser independientes y separadas, al menos, por una vía pública de otras bodegas o locales no inscritos, solamente deberán tener entrada de uva procedente de viñedos inscritos o mostos o vinos procedentes de otras bodegas también inscritas en la misma DOP, y en ellas se deberá elaborar o embotellar exclusivamente vino con derecho a la misma.

e) Dentro de la zona de producción de la DOP, deberán estar delimitados cartográficamente, por cada término municipal, los terrenos que se consideren aptos para producir vinos con derecho a la denominación de origen calificada.

- “*Denominación de Origen*” (D.O.): nombre de una región, comarca, localidad o lugar determinado que haya sido reconocido administrativamente para designar vinos que cumplan las siguientes condiciones:

- a) El vino deberá disfrutar de un elevado prestigio en el tráfico comercial en atención a su origen.
 - b) La región, comarca o lugar a la que se refiera la denominación de origen, tendrán que haber sido reconocidos previamente como ámbito geográfico de un vino de calidad con indicación geográfica con una antelación de, al menos, cinco años.
 - c) La delimitación geográfica de la DOP deberá incluir exclusivamente terrenos de especial aptitud para el cultivo de la vid.
- “Vino de Calidad con indicación geográfica”, Los vinos se identificarán mediante la mención «vino de calidad de...», seguida del nombre de la región, comarca, localidad o lugar determinado donde se produzcan y elaboren.

I.G.P:

- “Vino de la Tierra”, es el que ha sido delimitado teniendo en cuenta unas determinadas condiciones ambientales y de cultivo que puedan conferir a los vinos características específicas.

En la actualidad, España cuenta con 91 zonas con D.O.P. de las cuales 70 son D.O., 2 D.O.Ca, 6 con Denominación de Vinos de Calidad y 17 son vinos de pago. Además, según datos del Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente, existen 46 clases de vinos con derecho a la mención tradicional Vinos de la Tierra, englobadas todas ellas dentro de la categoría general de I.G.P.

El estudio realizado en la presente tesis se ha desarrollado íntegramente en la D.O. “Vinos de Madrid”.

Nota: Aunque el reglamento (CE) 479/2008 está derogado, por el Reglamento (CE) 491/2009 (DOUE L 154 de 17/06/2009, Pág. 1), su contenido se mantiene vigente, al haber quedado incluido en el Reglamento (CE) 1234/2008 (DOUE L 334 de 12/12/2008, Pág. 7) que regula la OCM única para todo el sector agrícola, donde queda integrada la vitivinícola.

V.1.2.1. D.O. “Vinos de Madrid”

En marzo de 1986 el Ministerio de Agricultura aprueba la Denominación Específica Vinos de Madrid, pero no es hasta noviembre de 1990 cuando la Denominación de Origen Vinos de Madrid es autorizada administrativamente.

Según datos oficiales reportados por el consejo regulador de la D.O. “Vinos de Madrid”, en la actualidad existen 8.390,85 hectáreas de viñedo, de las que se ocupan 2.891 viticultores madrileños, repartidas de la siguiente forma:

Tabla 1. Distribución por subzonas en la D.O. “Vinos de Madrid”

SUBZONA	SUPERFICIE (ha)	Nº PARCELAS	Nº VITICULTORES
ARGANDA	4.670,24	6.961,00	1.885
NAVALCARNERO	1.812,27	2.158,00	578
SAN MARTÍN DE VALDEIGLESIAS	1.908,34	2.367,00	428
TOTAL	8.390,85	11.486,00	2.891

La D.O. cuenta con 44 bodegas repartidas en las 3 subzonas distribuidas en el sur de Madrid de este a oeste (Figura 1).

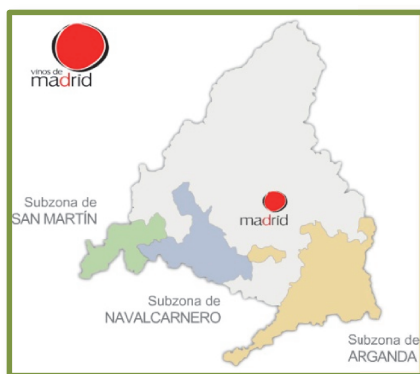


Figura 1. Mapa D.O. "Vinos de Madrid"

La subzona de Arganda es la más grande de las tres. Posee los suelos más fuertes de la D.O. que suelen presentar texturas entre franca y franco-arcillosa, altos contenidos de carbonatos y generalmente alcalinos. El clima continental de la Denominación de Origen se caracteriza por temperaturas extremas en invierno y en verano. En cuanto a pluviometría, registra la media más baja de las tres subzonas, aproximadamente 460 mm anuales. Las 27 bodegas pertenecientes a la Subzona de Arganda elaboran unos 20 millones de litros, lo que supone algo más del 50 % del total producido en la Denominación de Origen.

La subzona de Navalcarnero es la de menor extensión, supone aproximadamente el 14% del viñedo inscrito. El viñedo cuenta con suelos de origen sedimentario, sobre zonas de campiña y vega con predominancia de texturas franco arenosa y neutros o ligeramente ácidos. La precipitación media anual aquí registrada es de unos 530 mm anuales. Existen 5 bodegas acogidas a esta Subzona, que elaboran aproximadamente el 20% de la producción total de la Denominación de Origen.

Por último, la subzona de San Martín. Su proximidad al Sistema Central le confiere un relieve accidentado que sirve de barrera ante los vientos fríos del norte, permitiendo un régimen de temperaturas más templado y mucho más húmedo con precipitaciones medias anuales de 628 mm, esto se traduce en un paisaje menos árido, con dehesas, montes y pinares. Los viñedos se asientan en laderas, piedemontes y aluviones. Los suelos de esta zona se caracterizan por ser ácidos, de textura arenosa, muy drenantes y pobres en materia orgánica. Las 12 bodegas que operan en esta Subzona elaboran aproximadamente el 30 % del total de la producción.

Los viñedos en los que se han realizado los ensayos de la tesis se encuentran distribuidos en las subzonas de Arganda y San Martín de Valdeiglesias. Sus características serán descritas en el apartado VI.2.1 de materiales y métodos.

Los productores de vino de la D.O. "Vinos de Madrid" basan su producción en el cultivo de las tradicionales variedades de vid preferentes (*Vitis vinifera* cv. L.): Albillo Real, Malvar (variedades blancas),

Garnacha y Tempranillo (variedades tintas) (Gil et al. 2006). Además, otras variedades, autorizadas en la D.O. son: Syrah, Cabernet Sauvignon, Merlot, Graciano, Garnacha Tintorera, Petit Verdot, Airén, Moscatel de grano menudo, Parellada, Torrontés, Viura o Macabeo y Sauvignon Blanc.

V.2. EL AROMA DE LA UVA Y DEL VINO

El aroma es probablemente la característica organoléptica más importante y una propiedad clave para los consumidores contribuyendo a la calidad y tipicidad del vino (Perestrelo et al. 2006). En la mayoría de las ocasiones constituye la causa de aceptación o rechazo por parte del consumidor (Pretorius & Bauer 2002), de ahí que la composición aromática de las uvas, mostos y vinos sea objeto de numerosos estudios.

Es necesario diferenciar claramente entre el olor de un producto, que es “la sensación puramente olfativa que percibimos al oler el mismo por vía ortonasal”, del aroma, que constituye “el conjunto de sustancias que tiene dicho producto y que son capaces de impactar en nuestro sentido olfativo”, durante la ingesta del producto (Casal del Rey 2001).

El aroma del vino posee una gran complejidad debida en parte a su origen, puesto que es el resultado final de una larga secuencia biológica, bioquímica y tecnológica que se inicia en la cepa y termina en la copa; y en parte al número elevado de constituyentes, cuyas concentraciones van desde algunos nanogramos por litro (ng/L) hasta algunos miligramos por litro (mg/L) (Flanzy et al. 2000a).

Muchos de los compuestos volátiles del vino poseen aromas determinados, pero sólo un número limitado de ellos se encuentran en concentraciones suficientes como para ser apreciados. De esta forma, resulta interesante clasificar los aromas en relación a su contribución al aroma (Ferreira et al. 2002).

Se consideran sustancias aromáticas aquellas que en su matriz se encuentran en concentraciones superiores a su umbral de percepción olfativa (UPO). El UPO es la concentración mínima de un compuesto necesaria para poder ser reconocido por su olor. La relación entre la concentración y el umbral, denominado valor de la actividad aromática o valor de aroma (VA u OAV en inglés), es una medida de la intensidad aromática de una sustancia y permite, comparar intensidades aromáticas de una misma sustancia en diferentes matrices (Falqué et al. 2001; Peinado et al. 2004). El OAV de un compuesto “x” en el vino se calcula de acuerdo a la ecuación: $OAV = C_x/A_x$, donde C_x representa la concentración del compuesto “x” en el vino y A_x , la concentración umbral olfatoria del compuesto “x” en el vino, de forma que aquellos compuestos con un OAV superior a 1 se pueden considerar odorantes activos (Guth 1997). Sin embargo, según la teoría de Meilgaard (1975), una sustancia puede contribuir sensorialmente cuando tenga una concentración de al menos un 20 % de su umbral, es decir cuando su OAV sea superior a 0,2. Por lo que compuestos que estén presentes en muy bajas concentraciones pueden jugar un papel en el aroma más importante que otros que se encuentren en concentraciones superiores pero que apenas contribuyan al mismo.

El UPO de un odorante va a depender de la matriz en la que se encuentre ya que va a influir directamente en el modo en que la molécula aromática va a llegar al sistema olfativo. Así, en matrices

acuosas, cuanto menos polar sea la molécula volátil, será menos soluble y por tanto tendrá más presión de vapor, como consecuencia será más fácil de inhalar. Por otro lado, hay que tener en cuenta que algunos aromas son debidos a un solo compuesto mientras que en otros casos son debidos a la acción sinérgica de un compuesto principal junto con otros presentes en la matriz, de manera que el umbral de percepción se ve modificado en su conjunto (Atienza et al. 1999).

V.2.1. Clasificación de los aromas de la uva y el vino

Como indicamos anteriormente, la complejidad aromática, se debe, a diversos mecanismos implicados en su desarrollo: el metabolismo de la uva, que depende de la variedad, suelo, clima y técnicas de manejo del viñedo dará lugar principalmente a los precursores aromáticos; los fenómenos bioquímicos que se dan antes de la fermentación (oxidación e hidrólisis) en las etapas de extracción y maceración del mosto darán lugar a compuestos de 6 átomos de carbono; la fermentación realizada por microorganismos que dará lugar a constituyentes aromáticos volátiles como productos secundarios de su metabolismo y por último las reacciones químicas o enzimáticas que se dan durante el periodo de envejecimiento del vino que darán lugar a sustancias aromáticas que a su vez pueden evolucionar. Por tanto, atendiendo al origen, podemos distinguir tres tipos de aromas (Cordonnier & Bayonove 1981):

- Primario: constituyentes varietales que proceden de la uva. Encontramos compuestos terpénicos, C13-norisoprenoides, bencenoides, compuestos C6, pirazinas y tioles.
- Secundario: productos del metabolismo de las levaduras durante la fermentación. Formado por alcoholes, ácidos grasos y sus ésteres, compuestos carbonilados, compuestos azufrados y bencenoides.
- Terciario: formado durante el periodo de conservación del vino. Pueden ser compuestos de las mismas familias que los aromas fermentativos ó, en el caso de vinos de crianza, compuestos cedidos por la madera.

V.2.1.1. Aromas varietales

Los compuestos varietales son aquellos que proceden de la uva y dependen de la variedad (Günata et al. 1985), el clima, el tipo de suelo (Sabon et al. 2002) y las prácticas agronómicas realizadas en el viñedo (Fragasso et al. 2012). Juegan un papel más decisivo en la calidad y el carácter regional del vino que otros componentes del aroma, ya que van a ser los responsables de los aromas primarios del vino. Cada variedad de uva aporta al vino una personalidad aromática particular debido a la especificidad de sus compuestos volátiles y por las diferentes combinaciones y concentraciones de los mismos.

Los compuestos del aroma de la uva constituyen un grupo complejo de sustancias que podemos encontrar en forma libre o en forma ligada, siendo las primeras sustancias volátiles olorosas y las segundas no volátiles y por tanto sin olor. Estas últimas pese a estar ligadas y ser inodoras son muy importantes ya que en los procesos de vinificación se pueden liberar como consecuencia de la ruptura del enlace químico

que las conforma dando lugar a los aromas varietales de los precursores que serán transmitidos al vino. A su vez los precursores aromáticos pueden dividirse en dos grupos en función de si son o no compuestos específicos del aroma. Los precursores específicos son aquellos en los que la molécula volátil se encuentra retenida en su estructura y necesita ser liberada para que su aroma pueda ser percibido aportando la tipicidad varietal al aroma de los vinos. Se consideran no específicos a los ácidos grasos, carotenoides y aminoácidos que durante la fermentación alcohólica dan lugar a compuestos volátiles que no son característicos de la variedad (Serrano de la Hoz 2014).

Así, en el potencial aromático de la uva pueden distinguirse dos grandes grupos:

- El aroma varietal libre (sustancias olorosas ligadas a la variedad).
- El aroma varietal ligado (sustancias inodoras ligadas a la variedad).
 - Precursores específicos (glicósidos, cisteínicos y glutatiónicos).
 - Precursores no específicos (ácidos grasos, carotenoides y aminoácidos).

Sin embargo, también hay que considerar que el término aroma varietal no implica que cada variedad de uva contenga compuestos volátiles específicos. Los precursores cisteínicos y glutatiónicos no se encuentran en todas las viníferas y requieren de actividades específicas enzimáticas de las levaduras para poder ser liberados. Los precursores glicosídicos sí que se encuentran en todas las variedades constituyendo la principal reserva de aromas que se irá liberando durante la fermentación y a lo largo del periodo de envejecimiento. Estos pueden ser liberados por acción enzimática y por hidrólisis ácida.

V.2.1.1.1. Aromas libres

V.2.1.1.1.1. Terpenos

Los terpenos constituyen una amplia familia dentro del reino vegetal. Además de contribuir al aroma, también están involucrados en procesos importantes tales como estructuras de membrana, reguladores de crecimiento y en la defensa o respuesta al estrés de la planta (Schwab & Davidovich-Rikanati 2008). Dentro de la familia, los compuestos odorantes se pueden clasificar en monoterpenos (compuestos con 10 átomos de carbono) y sesquiterpenos (con 15 átomos de carbono), formados por dos y tres unidades de isopreno respectivamente. Dentro de los sesquiterpenos encontramos los alcoholes sesquiterpénicos, de poca importancia a nivel sensorial en los vinos. Los monoterpenos aparecen en forma de hidrocarburos simples (limoneno, mirceno), de aldehídos (linalal, geranial), de alcoholes (linalol, geraniol, citrionelol, nerol, α -terpineol), de ácidos (ácido linálico, ácido geránico), e incluso en forma de ésteres (acetato de linalilo). Son los principales responsables de los aromas florales y frutales característicos de ciertas variedades de uva, como Moscatel, aunque están presentes en casi todas las variedades en mayor o menor medida. Existen también formas polihidroxiladas de monoterpenos, o polioles odorantes libres. La característica más significativa de los polioles es que, a pesar de que estos compuestos no tienen ninguna contribución directa al aroma, algunos de ellos son reactivos y se pueden liberar con gran facilidad para generar volátiles potentes y de aromas agradables. Por ejemplo el diendol, puede dar lugar al ho-trienol y óxido de nerol

(Mateo & Jiménez 2000). En la Figura 2 se muestran las estructuras de los monoterpenoles más frecuentes en *Vitis vinifera*.

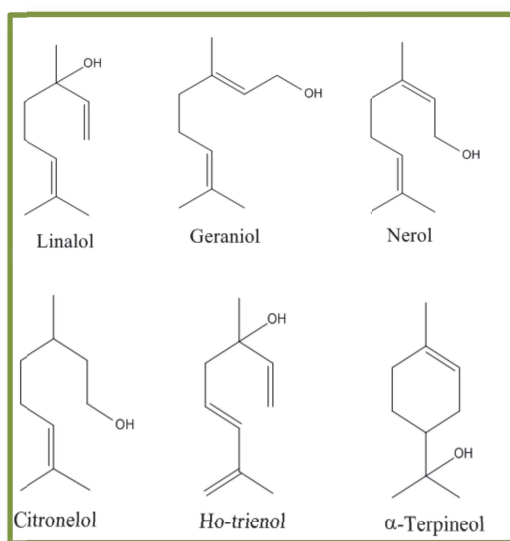


Figura 2. Estructura de los monoterpenoles más frecuentes (Conde et al. 2007)

La biosíntesis de este grupo de compuestos, Figura 3, se realiza a través de metabolitos primarios, está formada por varias etapas que van desde la glucosa al ácido mevalónico vía acetil CoA y de éste ácido al isopentenil pirofosfato, unidad base isoprénica de 5 átomos de carbono, a partir de la cual van a construirse todos los terpenoides por condensación (Marais 1983).

Los terpenos libres se localizan fundamentalmente en la pulpa y en el hollejo de la baya, de esta forma, el 90% del geraniol y nerol se encuentran en el hollejo mientras que el linalol se reparte entre la pulpa y el hollejo en un 50%. Si tenemos en cuenta el peso relativo de hollejo y pulpa, todas las operaciones que supongan un aumento de contacto entre las partes sólidas y el mosto, deben ser tenidas en cuenta por su implicación en las características aromáticas finales del vino. La concentración de terpenos libres acumulada aumenta con el desarrollo de la baya hasta el final de la maduración, a partir de ahí, con la uva sobremadura, se atenúa o disminuye.

La naturaleza química de los terpenos hace que sus características permanezcan inalteradas durante la fermentación (Mateo & Jiménez 2000), sin embargo, son sensibles a las reacciones de hidratación y oxidación que ocurren durante el proceso de envejecimiento del vino. Así, tras unos meses de conservación, el linalol puede derivar en nerol, geraniol, α-terpineol, etc. Los polioles odoríferos a pH ácido pueden dar lugar a otros monoterpenos de aromas distintos, por ejemplo trans-1,8-terpineol (olor a eucalipto) o el 3,9-epoxi-p-ment-1-eno (olor a hinojo) (Williams et al. 1989).

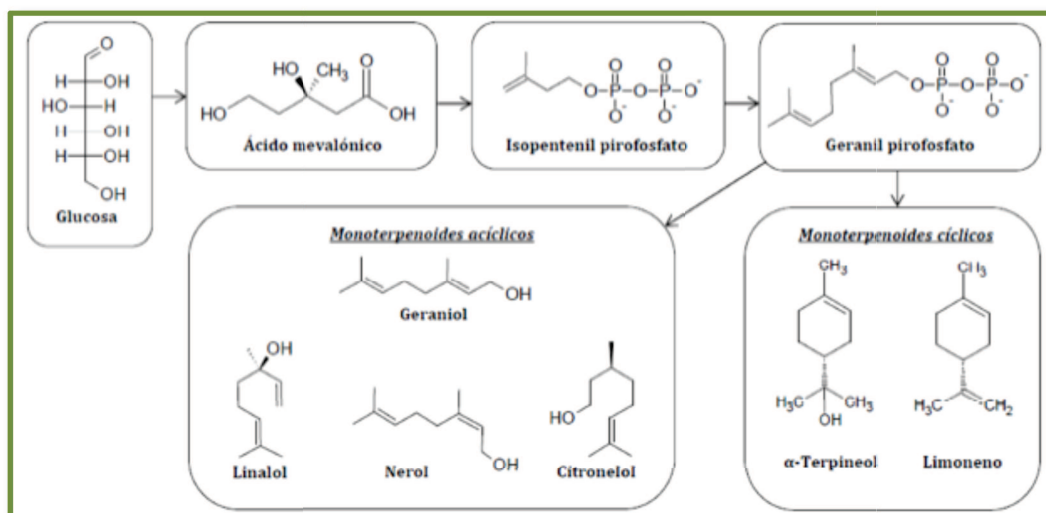


Figura 3. Ruta de biosíntesis de terpenos.

V.2.1.1.1.2. C13-norisoprenoides

Los norisoprenoides son compuestos con 13 átomos de carbono que derivan de la degradación oxidativa de los carotenoides, que corresponden a terpenos con 40 átomos de carbono (tetraterpenos) (Conde et al. 2007; Baumes 2009). La mayor parte de los carotenoides en las bayas actúan como pigmento de luz, mientras que en otras especies participan en la protección de la planta. Se sintetizan principalmente desde la primera etapa de formación del fruto hasta el periodo de envero, a partir de ahí se degradan hasta el final de la maduración para dar lugar a C13-norisoprenoides y otros compuestos glicosilados (Figura 4) (Baumes et al. 2002). Los norisoprenoides se localizan fundamentalmente en las partes sólidas de la uva, conteniendo en el hollejo dos o tres veces más que la pulpa.

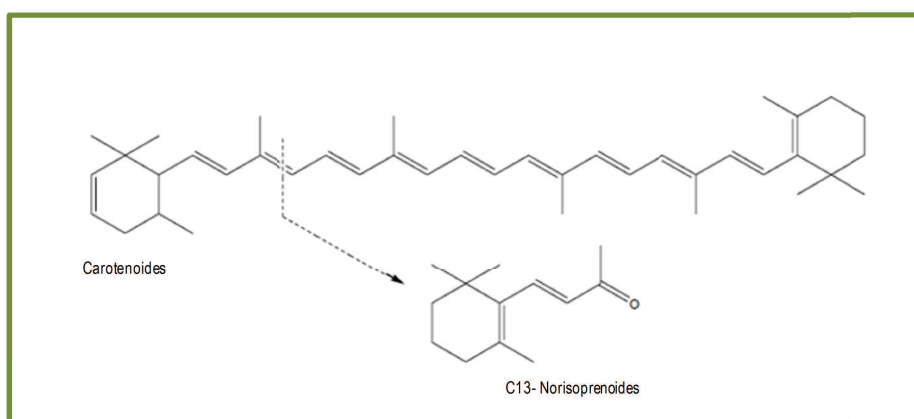


Figura 4. Ruptura de carotenoides conducente a la formación de C13-norisoprenoides en uvas (Enzell 1985)

Desde el punto de vista químico se pueden dividir en dos formas: megastigmanas y no megastigmanas. Las formas megastigmanas son norisoprenoides oxigenados en el carbono 7 (serie de las damascenonas) o en el carbono 9 (serie de las iononas). Entre estos compuestos destacan la β-

damascenona, con olor que varía desde floral (flores blancas) hasta ciruelas pasas, y la β -ionona, con olor a violetas. La β -damascenona se encuentra prácticamente en todas las variedades pero sólo en algunos casos con un aporte importante para el aroma (Riéreau-Gayon et al. 2003b). En cuanto a los C13-norisoprenoides no megastigmanos, el más significativo es el 1,1,6-trimetil-1,2-dihidronaftaleno (TDN), presenta un olor a keroseno, y juega un papel destacado en el aroma de los vinos Riesling envejecidos (Simpson 1978). Este compuesto puede detectarse durante el envejecimiento en botella y no suele aparecer en uvas y vinos jóvenes. Otros compuestos pertenecientes a la misma familia son los actinoides y el vitispirano, éste último con olor a té o a infusión. En la Figura 5 se representan los compuestos más relevantes de esta familia.

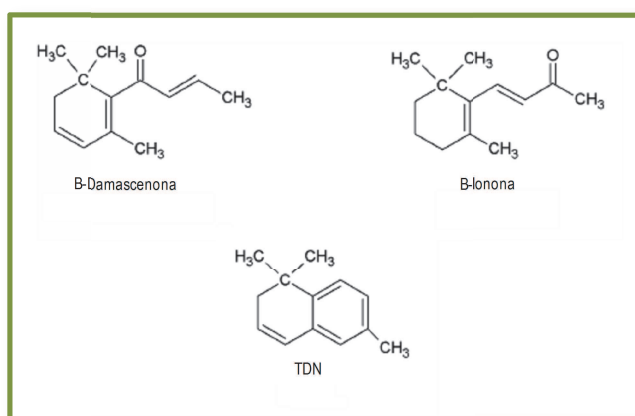


Figura 5. C13-norisoprenoides más relevantes

V.2.1.1.1.3. Compuestos C6

Estos compuestos, que reciben su nombre por el número de átomos que contienen, generalmente son debidos a la falta de madurez del fruto y son extraídos durante los procesos a los que la uva es sometida desde que es cosechada hasta que se inicia la fermentación (vendimia, transporte, almacenamiento, despalillado, estrujado, macerado y prensado). Estos procesos producen una ruptura celular que permite a las enzimas entrar en contacto con los sustratos presentes en el medio. Además, estos tratamientos permiten la incorporación de oxígeno que estará implicado en las reacciones de oxidación enzimática (Bayonove 2003). Estos compuestos también se encuentran en las hojas y el raspón.

La síntesis de los compuestos C6 está directamente relacionada con el metabolismo de lípidos. Los lípidos de la membrana son transformados por acción enzimática en ácidos grasos poliinsaturados, linoléico y linolénico; el primero de ellos por una nueva transformación enzimática activada por el oxígeno da lugar al hexanal, mientras que el segundo genera dos formas del hexenal: el trans-2-hexenal y el cis-3-hexenal, los cuales establecen, por acción de la alcohol deshidrogenasa un equilibrio con hexanol, trans-2-hexan-1-ol y cis-3-hexen-1-ol (Figura 6) (Hatanaka 1993).

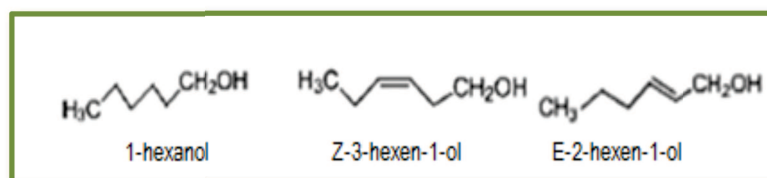


Figura 6. Compuestos C6 más destacados

Estos compuestos van a dar lugar aromas herbáceos en el vino. La manera de reducir el riesgo de aparición de estos compuestos deriva en obtener un buen nivel de madurez óptimo y, sobre todo, minimizar los excesos de rotura de los hollejos en los procesos mecánicos en bodega (Bayonove 2003).

V.2.1.1.4. Bencenoides

Los fenoles volátiles tienen dos rutas de origen. La primera es la descarboxilación, por medio de la enzima cinnamato descarboxilasa de la levadura, o por la intervención de otros microorganismos como las bacterias lácticas, de los ácidos fenólicos p-cumárico y ferúlico (Steinke & Paulson 1964), que se encuentran presentes en forma de ésteres de ácido tartárico en las uvas. Esto conduce a la formación de 4-vinilfenol y 4-vinylguayacol o el vainillato de etilo (Baumes et al. 1986).

La segunda ruta de origen es la hidrólisis de las formas glicosiladas de fenoles volátiles pertenecientes a las series fenol, guayacol y siringol. Así, distinguimos los compuestos vainillina y sus derivados que provienen del guayacol, siringaldehído y sus derivados que proceden del siringol y los fenoles de metilo (Sefton 1998; Bureau et al. 2000b). Esta ruta se produce principalmente durante el almacenamiento del vino y libera pequeñas cantidades de fenoles volátiles. Además, la madera también puede ceder otros fenoles volátiles al vino (Chatonnet et al. 1990).

Los fenoles volátiles provenientes de la uva poseen bajos UPOs y aromas agradables como el eugenol que huele a clavo, la vainillina y sus derivados que huelen a vainilla, el 2-feniletanol que huele a rosas, el guayacol responsable del aroma a especias y ahumado, etc. (Etiévant et al. 1989). En la Figura 7 se muestran algunos de los más representativos.

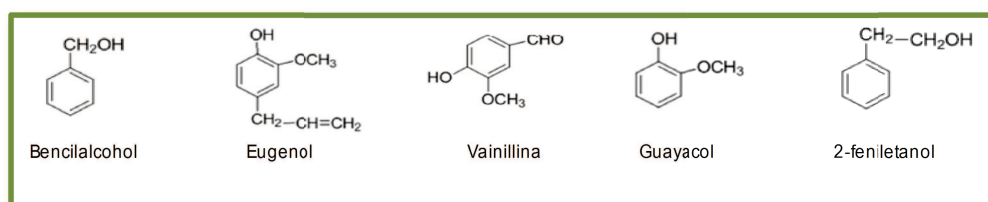


Figura 7. Bencenoides más representativos en uvas y vinos

Estos compuestos son, en parte, responsables de la tipicidad aromática de los vinos Gewuztraminer (Grando et al. 1993).

V.2.1.1.1.5. Pirazinas

Las pirazinas son compuestos nitrogenados que proceden del metabolismo de los aminoácidos (Conde et al. 2007). Están asociadas con aromas vegetales típicos relacionados con el carácter herbáceo, y únicamente aparecen en concentraciones por encima del umbral de percepción olfativa en las uvas y vinos de las variedades Sauvignon blanc (Allen et al. 1991; Lacey et al. 1991), Cabernet Sauvignon (Bayonove et al. 1975), Cabernet Franc y, en ocasiones, Merlot (Hidalgo 1999).

Las pirazinas se localizan en su mayoría en el hollejo y las semillas, y en pequeña proporción en la pulpa (Roujou de Boubée et al. 2002). Se acumulan principalmente en las primeras etapas de maduración de la baya (Kennedy 2002). En un estudio realizado por Roujou de Boubée (2002) para variedad Cabernet Sauvignon, se determinó que la síntesis de pirazinas en las bayas parecía ocurrir desde el cuajado hasta tres semanas antes del envero. Además también se encontraron pirazinas en las hojas de la vid por lo que se postuló que el transporte de estos compuestos podría realizarse desde las hojas vía floema. Por tanto, la concentración en la que aparecen en la uva está fuertemente influenciada por el grado de maduración y los factores que influyen en el correcto desarrollo de las etapas de madurez (clima, suelo, manejo del viñedo, etc.).

En uvas y vinos se han identificado principalmente tres pirazinas: 3-isobutil-2-metoxipirazina (IBMP), 3-secbutil-2-metoxipirazina (SBMP) y 3-isopropil-2-metoxipirazina (IPMP) (Figura 8) (Allen et al. 1995). Están relacionadas con aromas a pimiento verde (típicos de IBMP) y espárragos (IPMP).

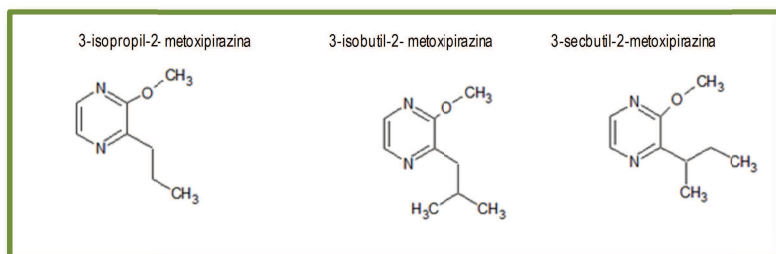


Figura 8. Principales pirazinas encontradas en uvas y vinos.

V.2.1.1.2. Aromas ligados. Precursores aromáticos

Los precursores de aromas corresponden a la fracción ligada del aroma. No son volátiles ni odorantes por lo que no pueden ser percibidas por el olfato, pero sí son susceptibles de liberar aromas bajo la influencia de diversos factores (Bayonove 2003) pudiendo incrementar la percepción de ciertas notas varietales.

Los primeros trabajos que dieron lugar a la descripción de un componente varietal no volátil capaz de incrementar el aroma libre fueron realizados en las variedades Moscatel (Cordonnier & Bayonove 1974; Ribéreau-Gayon et al. 1975; Günata et al. 1985). Los precursores del aroma forman parte del potencial aromático que se desarrollará durante la maduración de la uva y evolucionará durante la elaboración y envejecimiento del vino a través de reacciones complejas derivadas de un medio ácido o por acción

enzimática (Bayonove 2003). Así, se puede afirmar que gran parte de la tipicidad aromática de un vino proviene de los precursores presentes desde los primeros estados de desarrollo del fruto.

V.2.1.1.2.1. Precursores específicos del aroma

V.2.1.1.2.1.1. Precursores glicosídicos

Los precursores glicosídicos conforman una importante reserva de aromas del vino. Componen el grupo más importante responsable del carácter varietal de los vinos, ya que se estima que la concentración de estos precursores glicosilados es entre dos y ocho veces superior que la de sus homólogos libres (Francis et al. 1996; Bureau et al. 2000a).

La presencia de los primeros glicósidos fue sugerida en 1974 (Cordonnier & Bayonove 1974), y fueron identificados por primera vez en la uva por Williams et al. (1982). Aunque su distribución en la baya puede cambiar durante la madurez, están presentes en mayor cantidad en el hollejo de la uva. Los glicósidos están constituidos por una aglicona volátil, que posee al menos un grupo –OH por el que se une a una molécula de glucosa (β -D-glucopiranososa o β -Dglucosa) mediante un enlace O-glicosídico formando diglicósidos (apiósidos, arabinósidos y ramnósidos) ó monoglicósidos (Williams et al. 1982) (Figura 9).

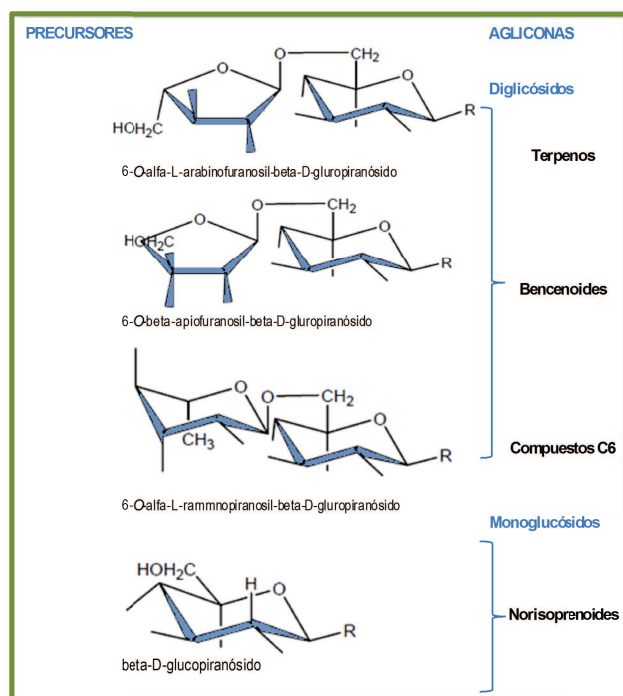


Figura 9. Principales precursores aromáticos glicosilados de las uvas y sus agliconas en forma de monoglicósidos y diglicósidos.

La fracción glicosídica es por tanto un reservorio de aromas que pueden ser liberados a lo largo de los procesos de vinificación y conservación del vino. Las agliconas van a ser liberadas por la acción de

enzimas endógenas o exógenas con actividad β -glucosidásica (Günata et al. 1990; Sánchez-Palomo et al. 2005), por la actividad de las levaduras (Fernández-González et al. 2003; Fernández-González & Di Stefano 2004; Hernández-Orte et al. 2008) y de las bacterias (Boido et al. 2002; Ugliano & Moio 2006) o por hidrólisis ácida (Williams et al. 1982; Salinas et al. 2012).

Las agliconas pertenecen a distintas familias químicas, principalmente monoterpenos, norisoprenoides, bencenoides y compuestos C6. Es importante saber que las diferentes clases de agliconas no van a tener el mismo comportamiento tras la hidrólisis de su precursor correspondiente. En el caso de los glicósidos monoterpénicos, van a producir compuestos volátiles aromáticos desde el mismo momento de su hidrólisis, sin embargo, en el caso de los glicósidos norisoprenoides, pueden formar productos inodoros tras la hidrólisis requiriéndose nuevas reacciones químicas para generar el compuesto aromático (Sefton et al. 2011). Esto queda reflejado en la Figura 10 donde se muestra un esquema de la síntesis del monoterpeno nerol y del norisoprenoide aromático β -damascenona a partir de precursores glicosídicos (Kinoshita et al. 2010).

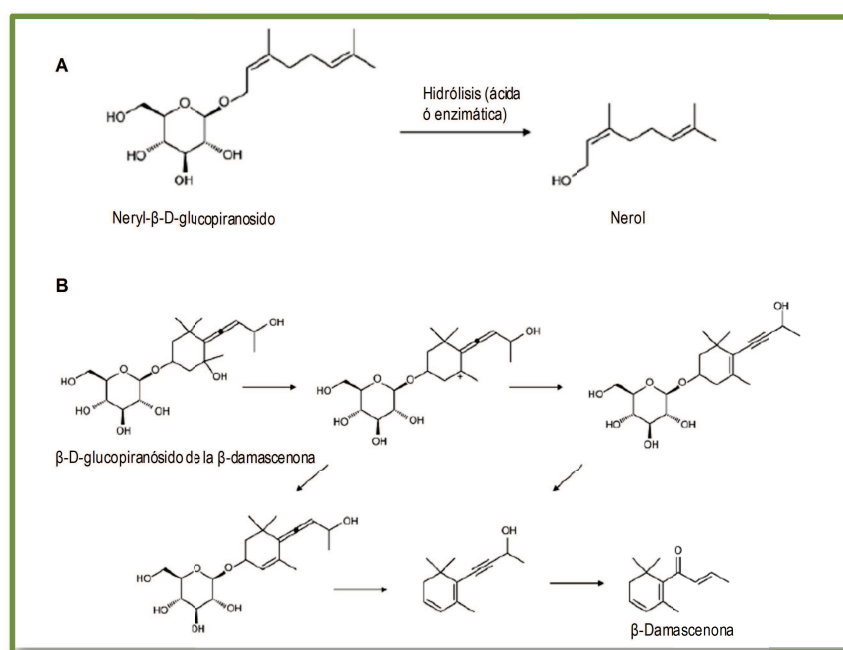


Figura 10. (A) Esquema de hidrólisis de neril- β -d-glucopiranosido a nerol. (B) Formación propuesta de β -damascenona a partir de un precursor glicosídico. (Adaptado de Kinoshita et al. 2010).

Los umbrales de percepción olfativa más bajos pertenecen a los terpenoles, C13-norisoprenoides y algunos bencenoides, lo que significa que aún en muy bajas concentraciones su presencia podría tener un gran impacto en la percepción de aroma. Los compuestos C6 se encuentran en muy bajas concentraciones en su forma glicosilada dado que comienzan a formarse durante los procesos mecánicos de la vendimia por lo que la planta no es capaz de glicosilarlos en el momento de su formación.

Por tanto, dado que las agliconas procedentes de los precursores aromáticos glicosilados son compuestos que poseen aromas agradables, podríamos establecer una correlación entre la cantidad de precursores glicosídicos en las uvas y la calidad e intensidad aromática del vino obtenido.

V.2.1.1.2.1.2. Precursores cisteínicos y glutatiónicos

Los tioles no volátiles derivados de cisteína y glutatión son de los precursores de compuestos aromáticos más potentes en la naturaleza. Se encuentran presentes en las uvas, y se liberan durante la fermentación alcohólica, dando lugar a vinos con propiedades varietales agradables. Los tioles varietales más importantes son: la 4-mercapto-4-metilpentan-2-ona (4MMP, 1), el acetato de 3-mercaptohexilo (3MHA, 2) y el 3-mercaptohexan-1-ol (3MH, 3). Parecen ser los responsables del aroma intenso, específico y dominante de los vinos de Sauvignon Blanc, con aromas exóticos agradables a brotes de casis, maracuyá, pomelo y hoja de tomate (Dubordieu & Darriet 1993; Tominaga et al. 1996; Tominaga et al. 1998).

Estos precursores se encuentran en muy bajas concentraciones en el mosto pero tienen un gran impacto sensorial en el vino debido al bajo umbral de percepción olfativo que poseen las moléculas que liberan (Thibon et al. 2008).

Los aromas correspondientes derivados de los precursores cisteínicos se liberan durante la fermentación por acción de enzimas con actividad β -liasa presentes en las levaduras (Tominaga et al. 1998). Los precursores glutatiónicos (S-3-(hexano-1-ol)-glutatión [G3MH]; S-3-(4-mercapto-4-metil-2-ona)-glutatión [G4MMP]) se encuentran en las uvas en concentraciones inferiores a los cisteínicos y también necesitan levaduras con actividad enzimática similar. Existe otra vía de síntesis en la que están implicados los compuestos C6 insaturados como el (E)-2-hexenal que reciben un grupo sulfhídrico durante la fermentación alcohólica (Roland et al. 2010). Sin embargo, el donador de azufre aún no ha sido identificado: podrían ser compuestos tales como el H_2S , la cisteína, el glutatión u otros compuestos que poseen un tiol libre en los mostos. En la Figura 11 se muestra un esquema de las rutas de síntesis de los principales tioles volátiles en vino.

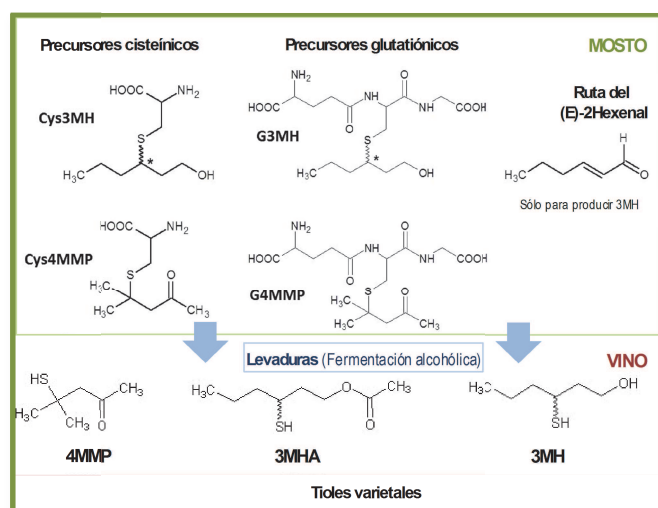


Figura 11. Ruta de síntesis de tioles volátiles en vinos (Adaptado de Roland et al. 2010).

En general son compuestos químicamente inestables y fácilmente oxidables que pueden transformarse en aromas desagradables en ambientes de reducción, por lo que es necesario un equilibrio entre las condiciones de reducción y el contenido en oxígeno.

V.2.1.1.2.2. Precursores no específicos del aroma

V.2.1.1.2.2.1. Ácidos grasos

Los ácidos grasos insaturados constituyen una de las fuentes principales de sustancias odorantes al ser transformados en aldehídos y alcoholes de 6 átomos de carbono mediante la acción de las enzimas lipoxigenasa y alcohol deshidrogenasa. Los ácidos linoleico y linolénico constituyen aproximadamente el 50 % de los ácidos grasos insaturados de la baya. Sus precursores lipídicos se encuentran fundamentalmente en el hollejo de la uva (Bayonove 2003). El contenido lipídico total aumenta al final de la maduración, tendiendo a aumentar la fracción de lípidos neutros más que la de los polares y experimentando un aumento poco pronunciado los fosfolípidos, así, la maduración de la uva conlleva un empobrecimiento en ácido linolénico mientras que el linoléico permanece prácticamente constante. Por el contrario, el ácido oleico aumenta (Bayonove 2003).

V.2.1.1.2.2.2. Carotenoides

Los carotenoides tienen el mismo origen que los terpenos pero poseen un grado de polimerización superior. Pueden encontrarse en concentraciones entre 15-2000 ug/Kg de uva dependiendo de la variedad, clima, suelo, vendimia etc. Se localizan en la pulpa y principalmente en el hollejo así que durante la fermentación pueden ser degradados por acción de la luz y por acción de las oxidasas dando lugar a compuestos más solubles, volátiles y odorantes (Bayonove 2003).

Los carotenos más abundantes en las uvas son el β -caroteno y la luteína. El primero junto con la neoxantina son los que se consideran los precursores de los C13-norisoprenoides más importantes.

V.2.1.1.2.2.3. Aminoácidos

Los aminoácidos presentes en el mosto son esenciales para el crecimiento y desarrollo de las levaduras durante la fermentación alcohólica. Van a ir sufriendo una serie de biotransformaciones, generándose compuestos tales como, alcoholes superiores, ácidos orgánicos, ésteres, aldehídos, lactonas e incluso terpenos y compuestos fenólicos, entre otros (Suárez Lepe 1997); lo cual modulará la composición y propiedades organolépticas finales del vino (Vilanova et al. 2007).

Los alcoholes superiores, los ácidos grasos volátiles, y especialmente los ésteres son compuestos importantes para el aroma del vino, sobre todo en las variedades neutras, las cuales presentan baja concentración de aromas varietales, y por lo tanto, su aroma viene determinado principalmente por los aromas de fermentación (Pretorius & Lambrechts 2000).

V.2.1.1.3. Aromas fermentativos

Estos aromas que constituyen el aroma secundario del vino se forman gracias a la acción de las levaduras durante la fermentación alcohólica y por las bacterias lácticas en los casos de los vinos en los que se realiza fermentación maloláctica. Son los responsables de la “nota vinosa” común a todos los vinos, es un olor ligeramente dulce, picante y agresivo, alcohólico y frutal (Flanzy et al. 2000a).

La fracción aromática formada durante la etapa de la fermentación alcohólica está formada por las siguientes familias: alcoholes, ácidos grasos y sus ésteres, compuestos carbonilados, compuestos azufrados, compuestos nitrogenados, lactonas y fenoles volátiles (Pretorius & Lambrechts 2000; Lorenzo et al. 2008). En los vinos donde se realiza una fermentación maloláctica se produce una modificación del aroma más sutil, perdiéndose notas vegetales y produciéndose más notas lácticas. Se produce una disminución de la acidez y se suaviza el vino; aparecen más compuestos carbonilados y se forman menos aldehídos y alcoholes; reduciéndose así el carácter vegetal y varietal del vino.

A continuación se realiza una descripción de las principales familias de aromas fermentativos y algunos de sus compuestos más representativos:

Alcoholes superiores: pertenecen a los alcoholes con más de dos átomos de carbono y poseen un punto de ebullición y peso molecular superiores a los del etanol. Su síntesis está ligada al metabolismo de los aminoácidos, y de esta manera, fuertemente influenciada por la fuente nitrogenada del mosto. Así, la producción de alcoholes superiores depende de la cepa de levadura, es decir, de su perfil de utilización de los aminoácidos y de su demanda de nitrógeno total. Se caracterizan por un olor penetrante y agudo con concentraciones comprendidas entre 100 mg/L y 400 mg/L, niveles superiores corresponderán a vinos defectuosos (Rapp & Mandery 1986). Pueden interferir en la detección de otros aromas cuando se presentan en concentraciones muy elevadas, mientras que niveles bajos de estos alcoholes favorecen la detección de aromas afrutados (Viana et al. 2009). Algunos alcoholes como el 1-butanol, el isobutanol, el 1-hexanol, el alcohol bencílico y el β -feniletanol poseen ciertas notas aromáticas que mejoran el perfil

organoléptico de los vinos (Gil et al. 2006). En concreto, el β -feniletanol está relacionado con aromas florales (pétalos de rosa) y puede aportar notas de miel (Mendes et al. 2012).

Ácidos grasos y sus ésteres: junto con los alcoholes, son los principales marcadores del aroma fermentativo de los vinos jóvenes. Son producidos en cantidades elevadas presentando un aroma fermentativo agradable, siendo los ésteres responsables de los aromas afrutados. Entre los ésteres más destacados se encuentran el acetato de etilo (aroma afrutado/barniz; también puede generar aromas desagradables cuando su concentración supera los 100mg/L), succinato de etilo (afrutado/floral), lactato de etilo (mantecoso), octanoato de etilo (piña, pera), acetato de isoamilo (plátano) y el acetato de hexilo (cereza/pera) (Aznárez et al. 1999).

Los ácidos grasos se vinculan aromáticamente con aromas negativos, a términos como “rancio” y “desagradable” (Escudero et al. 2004), pero no puede atribuírseles únicamente esta característica, puesto que se ha demostrado su influencia positiva en la percepción de matices afrutados en vinos (Ferreira & Juan 2011). Los más destacados son el ácido nonanoico, el ácido octanoico y el ácido decanoico (Molina et al. 2007).

Compuestos carbonilados (aldehídos y cetonas): generados por las levaduras mediante descarboxilación de ácidos α -cetónicos que se encuentran en vino en cantidades difícilmente detectables. Esto se debe a la fuerte actividad reductora de la levadura durante la fermentación y a la presencia de dióxido de azufre y alcoholes (principalmente etanol), que favorecidos por el pH del vino reaccionan con los compuestos carbonilados para formar respectivamente las combinaciones sulfíticas y acetales. Así, los únicos compuestos carbonilados producidos por la levadura que pueden influir en el aroma del vino son el acetaldehído (manzana en mal estado), acetoina y diacetilo (que aportan aromas lácticos y cremosos), 3-hidroxi-pentano-2-ona, la pentano-2,3-diona y el fenilacetaldehído (jacinto, rosas) (Culleré et al. 2004).

Compuestos azufrados: poseen uno de los tres grupos funcionales: tiol (mercaptano), mono- y poli-sulfuro y tioléster. Estas funciones azufradas confieren a estos compuestos olores intensos y percibidos negativamente. En este grupo destacan: sulfuro de hidrógeno (huevo podrido), 3-metilpropanol (patata cocida), 2-metiltiofan-3-ona (miga de pan) (López-Cordón 2010).

Otros constituyentes volátiles de la etapa fermentativa son: compuestos nitrogenados, mayoritariamente acetamidas de aminas primarias y sus aminas correspondientes. Las más destacadas son la 2-feniletilamina y N-(2-feniletil)-acetamida (Straub et al. 1995); lactonas, relacionadas con los hidroxiácidos puesto que se obtienen de la esterificación intramolecular de estos compuestos (los 4-hidroxiácidos dan lugar a las γ -lactonas y los 5- hidroxiácidos a las Δ -lactonas). En este grupo destacan la Δ -decalactona (melocotón) y la γ -nonalactonas (nuez de coco) (Muller et al. 1973); los fenoles volátiles cuyas cantidades suelen ser mucho más elevadas en vinos blancos que en tintos, contribuyen positivamente en el aroma del vino aunque tienen un umbral de percepción muy bajo: 4-vinilfenol (clavel) 770ppb y 4-vinilguayacol (clavo) 440 ppb (López et al. 2002).

V.2.1.1.4. Aromas post-fermentativos

Los constituyentes post-fermentativos incluyen todos los compuestos volátiles generados durante la conservación del vino tanto durante su permanencia en bodega como en botella. Son sustancias volátiles por sí mismas o procedentes de precursores varietales que se transforman en compuestos volátiles y que a su vez pueden evolucionar (Flanzy et al. 2000a).

Durante el periodo de envejecimiento del vino se van produciendo una serie de reacciones lentas y limitadas que hacen evolucionar el aroma afrutado de los vinos jóvenes hacia un aroma más complejo. En la bodega, el cambio del aroma es debido esencialmente a la extracción de ciertos compuestos de la madera, produciéndose un aumento de notas de madera, especias y vainilla a la vez que una disminución del aroma vegetal.

Entre los principales compuestos aromáticos cedidos por la madera implicados en el envejecimiento del vino destacan: las whiskylactonas, que poseen un característico olor a madera o a coco, y otros compuestos entre los que se encontraría algunos fenoles volátiles como vainillina, guayacol y derivados furánicos, como furfural, 5-metilfurfural, 5-hidroximetilfurfural (olor a almendras tostadas) (Fernández de Simón et al. 2008). Cabe destacar el papel de los precursores aromáticos que liberan sus agliconas pudiendo aumentar así el contenido de monoterpenos, bencenoides y norisoprenoides durante la conservación del vino (Sefton et al. 1990). También aumenta el contenido de algunos ésteres por esterificación de los ácidos láctico, tartárico y succínico con el etanol, generando otros compuestos como el lactato de etilo, malato de dietilo y succinato de dietilo. Hay que tener en cuenta que los aromas varietales libres y algunos ésteres como el acetato de isoamilo, hexilo y feniletilo van disminuyendo por una hidrólisis gradual tanto en la bodega como en la botella por lo que si el contenido en precursores no es suficiente para contrarrestar estas pérdidas se producirá una bajada del carácter frutal y varietal (Crespo et al. 2016b). En el caso de la permanencia en botella, tiene lugar procesos de reducción que puede derivar en la aparición de aromas causados por la presencia de compuestos azufrados, generalmente desaparecen cuando se deja airear el vino.

V.2.2. Evolución de la madurez aromática de la uva

La maduración se define como el periodo comprendido entre el envero de la uva y la vendimia (Kennedy 2002). En este tiempo se producen una serie de transformaciones en el fruto como el engrosamiento y ablandamiento de la baya, enriquecimiento en azúcares, aumento del pH, pérdida de acidez, acumulación de polifenoles y síntesis de aromas.

La duración de esta etapa es muy variable, entre 20 y 50 días dependiendo de la maduración óptima deseada para la cosecha, la región y la variedad. A partir del envero, el agua, los azúcares y los compuestos nitrogenados son transportados a las bayas, éstas comienzan a aumentar en peso y tamaño, se reduce la fotosíntesis y disminuyen la acidez y los aromas herbáceos. La uva acumula azúcares y empieza la síntesis de los aromas varietales y sus precursores. En la Figura 12 se muestran las fases de crecimiento de la baya y el desarrollo de los principales procesos de maduración.

La distribución y acumulación de los compuestos aromáticos en el hollejo y pulpa de la baya van a depender de la familia química y de la forma en la que se encuentren (libre ó ligada). En el caso de los monoterpenoles, durante la maduración, la baya acumula formas libres y sus precursores, encontrándose estos últimos en cantidades superiores a sus homólogos libres y a su vez en concentraciones más elevadas en el hollejo que en la pulpa (Gunata et al. 1985). Las formas libres y ligadas alcanzan los niveles más elevados cuando la uva está madura permaneciendo constantes hasta después de la maduración (Coelho et al. 2006).

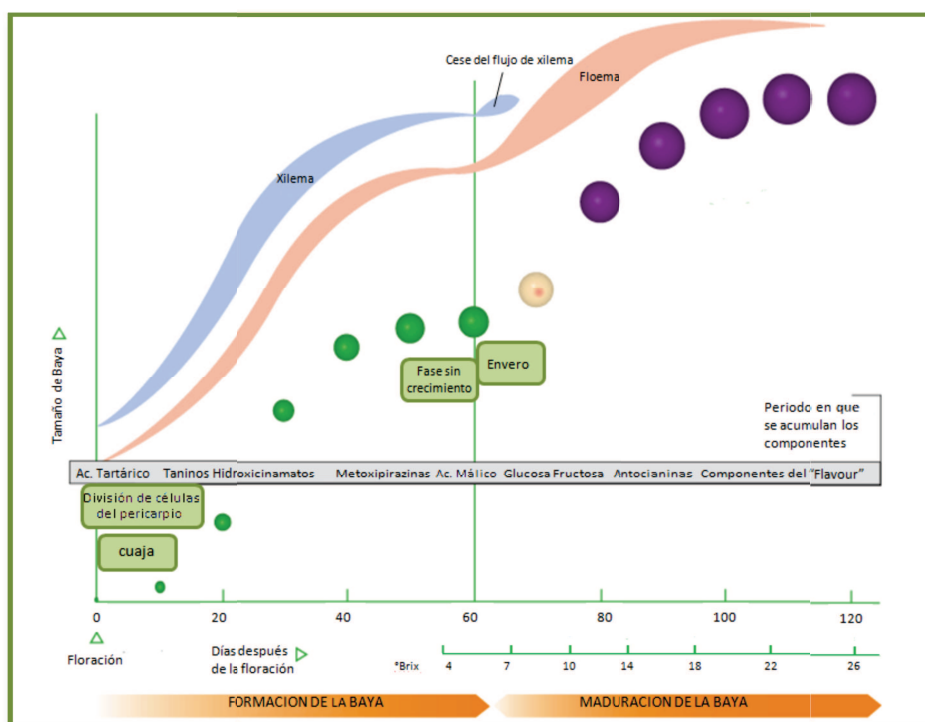


Figura 12. Curva de crecimiento y desarrollo de la baya (Kennedy 2002).

En cuanto a los C13-norisoprenoides, también se encuentran en mayor concentración en el hollejo. Sus precursores, los carotenoides, se van acumulando durante la primera etapa de desarrollo de la baya, hasta el envero, a partir de ahí comienzan a degradarse para dar lugar a la a sus formas libres, los norisoprenoides, que serán más abundantes cuanto más sol reciban las uvas, condición favorable para la degradación de sus precursores (Bayonove 2003).

Estudios sobre la evolución de las pirazinas han mostrado una disminución de su contenido a lo largo de la maduración. Éstos compuestos son más abundantes en uvas que han madurado en un ambiente fresco y con baja insolación. Así, la concentración de estos compuestos va disminuyendo progresivamente a partir del envero y es prácticamente inapreciable en condiciones óptimas de maduración (Bindon et al. 2013). En el caso de los tioles, se acumulan durante la maduración en su forma conjugada encontrándose ausentes en la baya bajo la forma volátil (Conde et al. 2007).

En general, se asume que el máximo contenido varietal libre es alcanzado antes de la madurez tecnológica, al contrario que los precursores del aroma que continúan acumulándose hasta bien avanzada la maduración. Así, según estudios realizados en variedades blancas (Bayonove 2003), en el caso de uvas asignadas a vinos jóvenes, resulta preferible realizar la vendimia antes de alcanzar la madurez tecnológica, y más tarde, en el caso de los vinos destinados a crianza.

V.2.3. Técnicas analíticas en el estudio de la composición aromática de la uva y el vino

V.2.3.1. Técnicas de extracción

Debido al interés mostrado en la identificación y cuantificación de los compuestos implicados en el aroma de los alimentos se han desarrollado y aplicado una gran variedad de metodologías y técnicas fundamentadas en las propiedades físico-químicas de estos compuestos (solubilidad, volatilidad, capacidad de ser adsorbidos etc.). El vino es un alimento especialmente complejo. La presencia de etanol puede enmascarar algunos compuestos implicados en el aroma y la presencia de otros compuestos no volátiles como azúcares, ácidos y polifenoles, puede complicar los análisis por contaminación de los equipos empleados para el estudio tales como las columnas cromatográficas (Ebeler 2001).

Los compuestos aromáticos presentes en mosto y vino, se clasifican en función de su abundancia en minoritarios, con concentraciones que varían entre 0,1 µg/L y 0,1 mg/L y mayoritarios, con concentraciones mínimas entre 0,5 y 5 mg/L (Noble 1982). Los compuestos mayoritarios no necesitan preconcentración a partir de los vinos, la inyección directa o la inyección en espacio de cabeza permite su detección, sin embargo, los minoritarios necesitan ser extraídos y concentrados para ser determinados (Gassiot et al. 1983).

La elección de la técnica de extracción es una etapa crítica para el análisis de los compuestos relacionados con el aroma. Así, de acuerdo con las propiedades físico-químicas ya mencionadas, existen distintas metodologías de análisis de compuestos aromáticos:

- Según la volatilidad: destilación y técnicas de espacio de cabeza (HS).
- De acuerdo con la solubilidad del analito en disolventes orgánicos: extracción en fase líquida (LLE), extracción en fase sólida (SPE), extracción en fluido súper crítico (SFE), extracción por ultrasonido (EAU) y extracción por microondas (MAE).
- En función de la capacidad de adsorción y absorción del analito en un material determinado: extracción en fase sólida (SPE), microextracción en fase sólida (SPME) y extracción con barrita agitadora (SBSE).

Entre las técnicas más empleadas en el análisis de compuestos volátiles en alimentos y bebidas, destacan la extracción líquido-líquido (ELL), la extracción en fase sólida (EFS), o las basadas en el estudio del espacio de cabeza.

V.2.3.1.1. Extracción en fase líquida (LLE)

El principio elemental de esta técnica es la solubilidad de los compuestos entre dos fases distintas, generalmente una fase acuosa, la matriz de partida, y una fase orgánica de polaridad determinada, el disolvente. La extracción simple con un disolvente seguida de la concentración bajo atmósfera de nitrógeno o el empleo de un rotavapor ha sido uno de los métodos más antiguos utilizados en el análisis de compuestos aromáticos (Moio et al. 1995).

Las variables que determinan la extracción son numerosas, destacando el tipo y la cantidad de disolvente empleado, el volumen de muestra a tratar y el tiempo de extracción. Así, la extracción en fase líquida puede realizarse en modo discontinuo o continuo, en función de la concentración del analito. Si la extracción es continua y el disolvente empleado tiene poca afinidad por los compuestos de interés es necesario alargar el tiempo de extracción hasta que la concentración de aromas en el disolvente sea similar a la contenida en la matriz.

La elección del disolvente orgánico es vital para asegurar una correcta extracción de las muestras vínicas. Los más usados suelen ser aquellos con baja afinidad por el etanol. Los clorofluorocarbonos (CFC) han sido disolventes ampliamente empleados para el análisis de compuestos aromáticos en distintas bebidas alcohólicas por su baja afinidad por alcoholes de menos de cuatro átomos de carbono. Así, Zhou et al. (1996) y Ebeler et al. (2000) emplearon el Freón-11 para la determinación de compuestos aromáticos en vinos Moscatel y Brandy respectivamente. Debido a la reciente preocupación por la contaminación ambiental y la relación de los CFC con el efecto invernadero (Ramanathan & Feng 2009) y, por tanto, con el cambio climático, actualmente se están empleando otros disolventes como el diclorometano (Schneider et al. 1998; Kotseridis & Baumes 2000; Rocha et al. 2000; Ortega et al. 2001; Ortega-Heras & González-SanJosé 2002; Mallouchos et al. 2003; Rocha et al. 2004) o la mezcla pentano-diclorometano en el análisis de compuestos volátiles en vino (Tominaga et al. 1996; Cabaroglu & Canbas 2002; Versini et al. 2015).

V.2.3.1.2. Extracción en fase sólida (SPE)

La extracción en fase sólida (solid-phase extraction, SPE) es una técnica muy empleada recientemente en el análisis de compuestos contenidos en matrices complejas. Es una técnica de aislamiento y preconcentración que comenzó a implantarse a principios de los años 80 debido a que reducía el uso de disolventes orgánicos y se evitaban problemas de separación de las fases en las extracciones LLE.

Se basa en la retención selectiva de analitos de una muestra en un sólido adsorbente (fase estacionaria) contenido en un cartucho, jeringa o disco. Tras un proceso de lavado para eliminar interferencias, los analitos de interés son eluidos mediante un disolvente que tiene más afinidad por el analito que el sólido adsorbente. La elección de la fase sólida es determinante para el tratamiento de una muestra concreta. Por tanto, la selección del adsorbente dependerá del analito de interés y de la matriz que lo contenga, así como las posibles interferencias que puedan darse. Actualmente existen tres tipos de materiales para fabricar los adsorbentes: relleno de silicagel, poliméricos y de carbón activo. Todos ellos se

modifican en función de las necesidades para dar lugar a los siguientes rellenos en función de sus características químicas: polares y no polares; ácidos, básicos y neutros; hidrofílicos o hidrofóbicos; catiónicos o aniónicos. Así, dependiendo del tipo de adsorbente, el analito de interés y el eluyente empleado se dan una serie de interacciones que permiten separar el analito del resto de componentes de la matriz (Serrano de la Hoz 2014a).

La SPE es una técnica empleada como etapa previa en la determinación de compuestos aromáticos libres y ligados presentes en uvas y vinos. En concreto, el aislamiento de glicósidos de mostos y vinos por adsorción selectiva es una práctica comúnmente empleada (Mateo & Jiménez 2000). Williams et al. (1995) desarrollaron un método para la determinación de glicósidos en una muestra de uvas mediante la cuantificación de la glucosa glicosídica (GG) empleando cartuchos C-18. Este método se basa en la relación equimolecular 1:1 entre la glucosa y los glicósidos (unidos a agliconas volátiles) encontrados en uvas. El método implicaba el aislamiento de los glicósidos por SPE seguido de una hidrólisis enzimática de la glucosa liberada. Este método fue mejorado posteriormente por Iland et al. (1996) y Zoecklein y Douglas (2000) con el objetivo de evitar las interferencias de las antocianinas glicosiladas y así obtener una idea más aproximada del conjunto de precursores glicosídicos unidos a agliconas aromáticas que componían la mayor parte de la fracción aromática de las uvas. A partir de entonces, muchos son los autores que manejan la extracción en fase sólida como técnica empleando distintas fases en función del tipo de matriz que analicen, uva o vino (Diéguez et al. 2003; Fernández-González & Di Stefano 2004; Oliveira et al. 2004; Schneider et al. 2004; Feng et al. 2015).

Recientemente, Serrano de la Hoz et al. (2014b) propusieron un método de extracción y aislamiento de los precursores glicosilados aromáticos mediante el uso de cartuchos SPE y empleando un patrón de referencia basándose en la medida de la glucosa G-G liberada a partir de estos precursores. Más tarde, perfeccionaron la técnica para hacerla aplicable en bodega. Así desarrollaron un método de análisis en el que se determina el contenido de glucosa G-G mediante una lectura espectrofotométrica empleando un kit de reactivos (Teknokroma Analítica). De esta forma es posible conocer el contenido total de precursores aromáticos en uvas, mostos y vinos mediante el parámetro denominado Índice de Potencial Aromático Varietal (IPAv).

V.2.3.1.3. Microextracción en fase sólida asociada a espacio de cabeza (HS-SPME)

Debido a su sencillez, bajo coste, la ausencia de disolventes, la facilidad para acoplarse a un cromatógrafo de gases y la capacidad para aislar y concentrar compuestos volátiles sin interferencias con los componentes de la matriz, una de las metodologías más extendidas para llevar a cabo el análisis de los compuestos aromáticos en alimentos es la microextracción en fase sólida (SPME). Consiste en el empleo de una fibra de cristal de sílice recubierta de una fase polimérica que puede ser introducida directamente en la disolución de interés (DI-SPME) o bien en el espacio de cabeza (HS-SPME) permitiendo así aislar y extraer en una etapa los compuestos odorantes afines al polímero de la fibra.

Es un método sensible a las condiciones experimentales por lo que éstas deben ser controladas cuidadosamente para evitar cualquier cambio que pueda influir en los coeficientes de distribución y velocidad de adsorción de los analitos, y por tanto, en la reproducibilidad del método. Así, para obtener resultados reproducibles, es necesario controlar el volumen de líquido y espacio de cabeza, pH de la muestra, contenido salino para incrementar la adsorción (Zhang & Pawliszyn 1993; Steffen & Pawliszyn 1996), tiempo de muestreo, temperatura, profundidad de inmersión de la fibra, condiciones de agitación etc.

El éxito de la técnica de microextracción en fase sólida radica en la elección de la fibra adecuada, ya que el revestimiento de la fibra puede ser más o menos polar y en función de esto se podrán extraer unos compuestos u otros (Pawliszyn et al. 2012). Se han empleado distintos tipos de fibras y combinaciones de fibras para el análisis de aromas en muestras de uva y vino: PDMS (polidimetilsiloxano) (Vas et al. 1998; Guadarrama et al. 2001; Pozo-Bayón et al. 2001; Martorell et al. 2002), CAR-PDMS (Carboxen-polydimethylsiloxano) (De Calle García et al. 1998; Mestres et al. 1999), PA (poliacrilato) (Rocha et al. 2001), CAR-DVB (carboxendivinilbenceno) (Hayasaka & Bartowsky 1999), PDMS-DVB, CAR-DVB-PDMS (Bonino et al. 2003), DVB-CAR-PDMS (Demyttenaere et al. 2003; Ferreira & Pinho 2003; Yuan & M. Qian 2016), CW-DVB (Coelho et al. 2006).

La asociación de la HS-SPME a un cromatógrafo de gases acoplado a un detector masas (MS) o a un detector de ionización de llama (FID), es uno de los métodos más utilizados para el análisis del aroma de las uvas y el vino (Heaven & Nash 2012).

V.2.3.2. Técnicas de detección

La cromatografía de gases (GC) fue introducida en 1960 y rápidamente se convirtió en la herramienta óptima elegida para el análisis de compuestos volátiles (Bayonove & Cordonnier 1971; Riberau-Gayon & Glories 1971). La técnica se fundamenta en el paso de la muestra a través de una columna cromatográfica empleando un gas portador inerte. En el interior de dicha columna los compuestos quedarán retenidos en función de sus propiedades físico-químicas e irán eluyendo a distintos tiempos (tiempo de retención), para ser posteriormente registrados por el detector en base a su conductividad eléctrica. El resultado es un cromatograma representado mediante una gráfica de picos donde cada uno de ellos corresponde a un compuesto volátil y cuya altura y área determinan la abundancia.

En función del detector empleado, podemos distinguir entre: GC-O (detección olfatométrica), GC-FID (detector de ionización en llama) y CG-MS (detector espectrometría de masas).

La GC-O Es una técnica que combina el análisis cromatográfico de gases tradicional con la detección sensorial con el fin de estudiar mezclas complejas de sustancias olorosas e identificar los compuestos activos del aroma (Plutowska & Wardencki 2008). Una vez separados y eluidos en una columna de cromatografía de gases, los compuestos aromáticos se huelen (esnifan) a través de un puerto olfatorio. Esta herramienta, permite la combinación de la respuesta humana y electrónica para maximizar la capacidad de detección (Mayol & Acree 2001). Ha sido una técnica ampliamente utilizada durante los últimos años aportando información sobre el impacto e importancia de muchos compuestos individuales y

familias de compuestos volátiles en distintos tipos de vinos (Martí et al. 2003; Falcão et al. 2008; San-Juan et al. 2010; Barata et al. 2011).

La GC acoplada a detector de ionización en llama y a espectrometría de masas son las técnicas más empleadas en la cuantificación de compuestos volátiles en uvas y vinos.

V.2.3.2.1. Cromatografía de gases acoplada detector de ionización en llama (GC-FID)

El detector FID es uno de los más empleados y versátiles. Consta de un quemador de hidrógeno/oxígeno donde el gas portador y la muestra contenida en él son mezclados con hidrógeno. Esta mezcla se enciende mediante una chispa eléctrica produciendo una llama de alta temperatura. Los compuestos orgánicos sometidos a altas temperaturas se pirolizan y producen iones y cationes que actúan como conductores eléctricos. El proceso de ionización que se genera en la llama aproxima el número de iones producidos al número de átomos de carbono transformados en la llama, por lo que el detector es sensible a la masa (átomos de carbono que salen de la columna).

Es una de las metodologías más sencillas y avanzadas que ha permitido conocer el perfil aromático de diversos alimentos, siendo una técnica empleada por numerosos autores en la cuantificación de compuestos volátiles en uva y vino combinándose con distintos métodos de preparación de muestras. Así, Balboa-Lagunero et al. (2013) utilizaron la LLE con diclorometano combinada con GC-FID en el análisis de volátiles, al igual que Ortega-Heras et al. (2004) y Selli et al. (2006a). Castro et al. (2002) también emplearon la técnica GC-FID en el análisis de compuestos varietales en vino de variedades blancas empleando como extractante pentano-diclorometano. Por su parte, Rodríguez-Bencomo et al. (2003) validaron un método de análisis de compuestos volátiles mayoritarios en vinos dulces empleando la técnica HS-SPME para la extracción acoplada a GC-FID.

V.2.3.2.2. Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS)

Un espectrómetro de masas unido directamente al cromatógrafo es otro de los detectores más usados para llevar a cabo la detección de los compuestos separados cromatográficamente. Es una técnica que combina la capacidad de separación de la cromatografía de gases con la sensibilidad y capacidad selectiva del detector de masas. Esta combinación permite analizar y cuantificar compuestos trazas en mezclas complejas con un alto grado de efectividad. Por ello, es la técnica más comúnmente empleada en el análisis de compuestos volátiles y el potencial aromático de uvas y vinos.

Pedroza et al. (2010) emplearon esta técnica para comparar la composición volátil de uvas de variedades blancas y tintas, Girard et al. (2002) para determinar los aromas varietales de uvas de la variedad Gewürtztraminer. Del mismo modo, Vilanova et al. (2012) y Torchio et al. (2016) analizaron la fracción libre y ligada del aroma de uvas en distintos estados de maduración. Este modo de detección también ha sido empleado para seguir la evolución de la fermentación de mostos de uvas blancas (Vianna & Ebeler 2001) y tintas (Kotseridis & Baumes 2000). Además, son numerosos los trabajos que han

empleado la GC-MS para el análisis de compuestos aromáticos en la matriz del vino (Yuan & Qian 2006; Zalacain et al. 2007; Vilanova et al. 2013; Verzera et al. 2016).

V.2.4. Análisis sensorial

De acuerdo con la normativa ISO 5492:2008, el análisis sensorial se define como “el examen de las propiedades organolépticas de un producto realizable con los sentidos”. Dicho de otro modo, es la evaluación de la apariencia, olor, aroma, textura y sabor de un alimento o materia prima. Es una herramienta que nos provee de una información distinta a cualquier tipo de análisis aunque los resultados puedan estar correlacionados. Así, la capacidad de proporcionar una evaluación científica es fundamental para evaluar los cambios introducidos en un alimento.

En cuanto al aroma y sabor, el vino es el alimento más variado consumido por el hombre. En su composición interaccionan más de mil compuestos distintos, sin embargo, los primeros análisis metabolómicos indican la posibilidad de detectar más de 4000 moléculas diferentes que pueden correlacionarse de forma positiva o negativa con su calidad (Cuadros-Inostroza et al. 2010). Así, dos vinos pueden tener la misma composición química y tener un perfil sensorial desigual debido a las interacciones que puedan darse entre los distintos componentes que forman la matriz. Además, la influencia del clima, la composición del suelo, la variedad de vid, los distintos estados de maduración de la uva, las técnicas enológicas y vitícolas y las técnicas de conservación han dado lugar a una amplia gama de vinos. Es precisamente esta amplia variedad lo que le hace un alimento sujeto al aspecto afectivo del catador hacia las sensaciones, emociones y recuerdos que puedan despertar en él determinados aromas y sabores. El análisis organoléptico nos permite describir los perfiles, identificar y expresar las características sensoriales y monitorizar el control de calidad del vino (Casal del Rey 2001). Para limitar la subjetividad del catador hacia la percepción sensorial y emociones que puedan despertar los olores y sabores, se han establecido una serie de normas relativas a la metodología del análisis sensorial, tipo de copas a emplear, condiciones de la sala de cata, entrenamiento del panel de cata, etc. (Benavent 2006).

Los pasos para realizar la evaluación sensorial son: determinar los objetivos, seleccionar un panel de cata, entrenamiento del panel y consenso y selección de la metodología en la realización de las pruebas del análisis sensorial. Para ello, existen diferentes tipos de pruebas, las más comunes son las hedónicas, las pruebas de clasificación de tipo cuantitativa-estructurada o no estructurada, pruebas discriminantes y pruebas descriptivas (Anzaldúa-Morales 2005).

V.3. CAMBIO CLIMÁTICO ASOCIADO A LA VITICULTURA Y ENOLOGÍA

Gracias a su capacidad de adaptación al clima, el viñedo desempeña un papel muy importante en el paisaje mediterráneo. En muchas regiones semiáridas del mundo, la agricultura se ha ido desarrollando para combatir la escasez de agua mediante el empleo de técnicas de gestión de riego y suelo. La

importancia del cultivo de vid en condiciones semiáridas fue universalmente aceptada como alternativa agrícola en aquellas regiones del mundo donde la elaboración del vino es más que una actividad industrial (Riquelme & Ramos 2005). Los suelos donde la vid ha sido cultivada tradicionalmente son poco profundos, tienen poca capacidad de retención de agua y hay pocas alternativas agrícolas para sembrar cualquier otro cultivo. El viñedo contribuye al enriquecimiento del paisaje, mejora en la utilización de tierras que quedarían abandonadas y por tanto, ayuda a limitar la erosión.

A pesar de ser una especie con un amplio rango de adaptación a distintas condiciones ambientales y agronómicas, el correcto desarrollo de la vid está fuertemente influenciado por el clima. Las exigencias meteorológicas para la obtención de una uva de calidad son muy concretas y han sido muy estudiadas. La Tabla 2 registra las necesidades climáticas según el periodo de crecimiento correspondiente a las distintas etapas del ciclo biológico de la vid.

Tabla 2. Necesidades climáticas del viñedo según los periodos de crecimiento (Resco et al. 2014)

ETAPA	INICIO	NECESIDADES CLIMÁTICAS
I (brotación)	- Mediados de marzo- primera semana de abril - T media > 10°C	- Abundante humedad del suelo y sol - Temperatura > 10 °C durante el periodo vegetativo - Ausencia de heladas que puedan reducir el crecimiento y calidad
II (floración- envero)	- Final de primavera - T media > 15°C	- Estación seca y temperatura estable para no obstaculizar el desarrollo de las flores
III (envero, maduración, vendimia)	- Finales de julio- primera semana de agosto	- Condiciones climáticas sin lluvias para limitar la podredumbre del la uva. - T moderadas con salto térmico marcado entre el día y la noche - Durante la maduración, época fresca pero con calor suficiente para favorecer la acumulación de azúcares y precursores aromáticos en las bayas
IV (latencia)	- Finales de septiembre- mediados de octubre	- Invierno frío y lluvioso

Temperatura

La vid es una planta sensible a heladas que exige cierto calor para el correcto desarrollo y maduración de las bayas. Las temperaturas medias ideales para el desarrollo del cultivo deben ser entre 11 °C y 12 °C. Durante el periodo vegetativo puede resistir, de manera puntual, temperaturas hasta -1,5 °C y 40 °C y durante el periodo de reposo invernal, pueden alcanzar -12 °C en las yemas y -20 °C en la parte leñosa (Hidalgo 1999).

La amplitud de temperatura durante el periodo activo de vegetación, es un aspecto crítico debido a la influencia que ejerce en la capacidad de madurar las uvas y obtener niveles óptimos de azúcares, ácidos, precursores aromáticos y sustancias polifenólicas que se reflejarán en los vinos resultantes (Jones et al. 2005). Esta temperatura no es uniforme en todos los viñedos, ya que la cantidad de calor que la uva requiere para terminar la maduración es distinta entre las variedades de vid. La diferencia de temperaturas entre el día y la noche junto con la temperatura del aire (Jackson & Lombard 1993), también son factores determinantes en el correcto desarrollo de los compuestos aromáticos y cromáticos de la baya a lo largo de

su madurez (Singleton & Esau 1968; Kliewer & Torres 1972; Tomana & Utsonomiya 1979; Fregoni & Pezzutto 2000; Tonietto & Carbonneau 2004).

El empleo de las temperaturas registradas en una región, sirve como herramienta para caracterizar sus aptitudes vitícolas y potencial productivo. Para ello, se dispone de parámetros ó índices entre los que destaca el índice de Winkler, establecido por Winkler y Amerine en 1944 para la región de California. Es muy sencillo de calcular y por ello es el más empleado. Este índice térmico se define como la suma de temperaturas medias diarias eficaces desde el 1 de abril al 31 de octubre. Los autores consideran las temperaturas eficaces durante el periodo activo de vegetación como factor principal responsable del desarrollo de la vid. La temperatura eficaz (T_e) es la temperatura activa (T_a) menos 10 °C. ($T_e = T_a - 10^\circ \text{C}$) (Amerine & Winkler 1994; Malheiro et al. 2010).

Precipitaciones

La vid es una planta que resiste bien la sequía, con unas necesidades de agua anuales mínimas de 400 mm y óptimas del orden de 500-600 mm. El reparto equitativo de las lluvias a lo largo del ciclo vegetativo es más importante que la cantidad total anual. Dentro de su ciclo vegetativo necesita inviernos y primaveras que aporten humedad suficiente al suelo, aunque sin un exceso de lluvias primaverales que podrían favorecer la aparición de enfermedades a partir de la brotación. Las máximas necesidades de agua recaen entre los estados fenológicos de floración y envero, el cual corresponde al máximo desarrollo de la baya. Su sistema radicular le permite aprovechar la humedad de las capas profundas, y resistir así la sequía estival típica del mediterráneo; para una correcta maduración necesita ambientes secos, siempre que la falta de humedad no sea excesiva (Resco et al. 2014). Esta restricción hídrica moderada juega un importante papel en el vigor de la vid, la reducción del rendimiento, y siempre que no afecte a la actividad fisiológica de la vid, en la mejora del potencial aromático y polifenólico de la baya (Duteau et al. 1981; Matthews & Anderson 1988; Van Leeuwen & Seguin 1994; Tregoe et al. 2002; Coipel et al. 2006)

Radiación

Las necesidades de horas de sol de la vid son muy altas, precisa de una radiación elevada para la favorecer la madurez y color de los racimos. Precisa de 1.500 a 1.600 horas de sol anuales, de las cuales un mínimo de 1.200 horas debe corresponder al período de vegetación para realizar la fotosíntesis (Hidalgo 1999). Cuanto mayor sea la insolación en este periodo, mayor será el aumento en la cantidad de azúcares en las bayas, y habrá una mayor disminución del contenido en ácidos. La insolación directa sobre las yemas contribuye a la inducción y diferenciación floral, y por lo tanto a un mayor aumento del rendimiento de la planta.

Estas necesidades no solo dependen de la latitud donde se encuentre, sino también de la orientación del viñedo, la pendiente (Salazar & Moreno 2005) y de las diferentes técnicas de cultivo.

Viento

La importancia del viento depende de la topografía del terreno y de las características específicas de la zona. Los vientos pueden ser beneficiosos al reducir la temperatura o favorecer la fecundación, pero también dañinos si son huracanados, demasiado cálidos o demasiado fríos (Resco et al. 2014).

V.3.1. Efectos sobre la vitivinicultura

El cultivo de la vid y las características de la uva y el vino guardan una estrecha relación con el clima. La productividad y las características cualitativas del cultivo, son el resultado de su interacción con el ambiente (régimen hídrico y térmico). En particular, la aptitud de las zonas vitícolas para madurar sus uvas a niveles óptimos de azúcar, acidez, color, y componentes aromáticos, factores necesarios para la producción de vinos de calidad, dependen en gran parte de los niveles de temperatura durante el período de crecimiento de la vid (Adams 2006; Orduña 2010).

Las variaciones climáticas harán que sea muy difícil producir el mismo estilo de vino en una región determinada. Los vinos perderían la tipicidad y diferenciación de la región viéndose afectada la economía local por la reducción del valor del producto.

V.3.1.1. Efecto de las temperaturas

V.3.1.1.1. Efectos sobre el cultivo

Uno de los principales efectos del cambio climático es el aumento progresivo de las temperaturas, dando lugar a periodos vegetativos más cálidos y por tanto adelantando los estadios fenológicos y con ellos la maduración. Ante esta circunstancia las regiones vitícolas se comportan de manera desigual, por un lado las regiones de clima frío situadas en los valles del Rhin y Mosela en Alemania (Jones et al. 2005), donde el aumento de las temperaturas favorece a la calidad de sus vinos, y por otro lado las regiones de clima cálido donde se generan importantes desafíos para paliar las consecuencias negativas del aumento de las temperaturas durante el periodo vegetativo de la vid.

El cambio climático, con el incremento de la frecuencia de las sequías debido a la escalada de las temperaturas y disminución de las precipitaciones se ha confirmado como uno de los impulsores del aumento de incendios forestales (Moreno et al. 2014). Estos incendios, a parte de la pérdida biológica y del ecosistema, también podrían afectar a la propia calidad de los vinos ya que las uvas expuestas al humo pueden sintetizar elevadas concentraciones de fenoles volátiles y acumular glicoconjugados que generen aromas de carácter desagradables en los vinos (Vallesi & Howell 2007; Simos 2008; Kennison et al. 2009; Orduña 2010; Ristic et al. 2011; Parker et al. 2012).

V.3.1.1.2. Efectos sobre la cosecha y la calidad del vino

Con las variaciones de la temperatura, las cosechas también se ven fuertemente afectadas, de forma que las reacciones químicas y biológicas, tales como la oxidación de la uva y el mosto se ven aceleradas, proliferan microorganismos que pueden deteriorar el fruto, se hace difícil el control de las maceraciones y se pueden dar fermentaciones indeseables.

El estado físico de la vendimia es un factor muy importante. Si la uva llega dañada a la bodega debido a la deshidratación y el estrés por calor, se producirá un rápido crecimiento de microorganismos

acompañado de un incremento de los procesos oxidativos que se verán favorecidos por elevados niveles de pH en el mosto. Por tanto, será más difícil extraer un mosto de calidad.

Como consecuencia de temperaturas superiores a los 30 °C, la concentración de sólidos en las uvas puede aumentar hasta niveles de 24-25° Brix y con ello, el pH y el grado alcohólico probable. Esto, entre otras causas, probablemente sea debido al aumento de la concentración por evaporación del agua en la baya (Keller 2010). Elevadas cantidades de azúcares pueden ser un problema en la fermentación. Éstos, ejercen cierta presión osmótica sobre las levaduras, dificultando su proceso metabólico. Además, se generan mayores cantidades de etanol dificultando el final de fermentación al ser un compuesto tóxico en elevadas concentraciones. Estas temperaturas, que con frecuencia se pueden alcanzar en climas cálidos, también pueden derivar en una disminución de la síntesis de antocianos (Tarara et al. 2008) inhibiendo su formación y por tanto reduciéndose el color de la uva (Downey et al. 2006).

Niveles altos de alcohol potencian la aparición de aromas herbáceos en el vino, en cambio si el vino tiene un nivel más bajo los aromas que destacan son afrutados (Goldner et al. 2009) y se potencian los olores cítricos (Escudero et al. 2007). En la fase gustativa, el etanol interviene incrementando la sensación de amargor y de dulzor del vino, y reduciendo la percepción de la acidez y de la astringencia. También puede aportar unas ciertas notas metálicas (Jones et al. 2008) y una sensación de ardor (King et al. 2013). Actualmente los estudios de mercado han determinado que los consumidores prefieren los vinos complejos con gran intensidad de aromas varietales (Zamora 2006), por lo que el aumento de etanol y la temperatura durante la madurez dificultan la elaboración de este tipo de vinos.

La formación de los compuestos aromáticos también es directamente dependiente de la temperatura. La acumulación de aromas en variedades blancas se ve favorecida en climas fríos (Duchêne & Schneider 2005) por la síntesis de compuestos varietales que generan aromas frescos y florales como es el caso de los norisoprenoides.

Por otra parte, si la maduración no se ha realizado correctamente y el fruto ha alcanzado altos niveles de azúcares y pH, el sulfuroso añadido perderá su capacidad protectora. En presencia de elevadas concentraciones de azúcares, el SO₂ se puede combinar reduciendo así su efecto, y con altos niveles de pH el anhídrido sulfuroso ve reducidas sus propiedades antisépticas. Por ello, en años cálidos, los niveles de sulfuroso normalmente empleados no serán suficientes para controlar la proliferación de levaduras indígenas y bacterias.

El desarrollo de levaduras indígenas está relacionado con una disminución del nitrógeno asimilable en el mosto (Coulter et al. 2008). El déficit de nitrógeno influirá negativamente en el metabolismo de las levaduras y en la velocidad y evolución de la fermentación. También está relacionado con la formación de compuestos aromáticos en el vino. En mostos con una baja concentración de nitrógeno asimilable, la formación de sulfuro de hidrogeno (H₂S) debida al metabolismo de las levaduras aumenta, comenzando su síntesis cuando el nitrógeno del mosto ha sido consumido. Este compuesto confiere al vino defectos organolépticos confiriendo aromas a huevo podrido (cuyo umbral de percepción es de 1 ppb), además de

ser capaz de reaccionar con compuestos presentes en el vino, formando nuevos compuestos aromáticos no deseables, como el etanal o acetaldehído, originando etil-mercaptano (olor a cebolla o gas natural).

V.3.1.2. Efecto de las precipitaciones

V.3.1.2.1. Efectos sobre el cultivo

Las precipitaciones no se han modificado de forma homogénea a causa del cambio climático. En el último siglo, los datos registrados revelan que estas han aumentado en el norte de Europa y América, y en cambio, han disminuido en las regiones mediterráneas y en la zona africana del Sahel (Mastrandrea et al. 2015). No solo se ha reducido la cantidad de precipitaciones acumulada, también se han producido, con más frecuencia, factores extremos como lluvias torrenciales o inundaciones, dando lugar a otros problemas como la erosión del suelo.

Con una menor disponibilidad de agua para las plantas los rendimientos pueden verse afectados. Al igual que ocurría con elevadas temperaturas, los efectos van a ser distintos según la región vitícola, así, en territorios con veranos húmedos, como consecuencia de la reducción de las precipitaciones, se podría producir un incremento de la calidad de la uva, ya que para obtener uvas tintas de alto potencial es necesario un moderado déficit hídrico (Van Leeuwen et al. 2004). Esto fue demostrado por Cohen y Kennedy (2010) mediante ensayos de estrés hídrico. Obtuvieron aumentos significativos en el Índice de Polifenoles Totales del mosto. Además, en regiones con pluviometrías y humedades altas, las enfermedades fúngicas como la Botrytis y el Mildiu suponen un problema en el cultivo y en la posterior vinificación, ya que la planta y los frutos son muy sensibles a estos ataques. En terrenos anegados se puede producir asfixia radicular. Sin embargo, en las regiones más cálidas y secas la producción vitícola puede verse seriamente afectada si no se realiza un aporte de agua a la planta, el cual no siempre es posible en esas zonas. Los viticultores con viñedos en terrenos poco profundos y escasa retención de agua se verán obligados a aplicar riego para la supervivencia del cultivo. Si el agua de riego tiene una cierta salinidad, la calidad del vino puede verse comprometida por la aparición de atributos salinos relacionados con altas concentraciones de Na, K y Cl (Walker et al. 2003).

V.3.1.2.2. Efectos sobre la calidad de la uva y el vino

Otro efecto negativo de un exceso de potasio es su relación con la concentración de ácidos orgánicos, pH y contenido de antocianos en la uva y el vino. Durante los procesos de maceración que se realizan en la elaboración de algunos vinos, los niveles de potasio en el mosto pueden aumentar considerablemente puesto que éste se encuentra en mayor cantidad en los hollejos de la uva. El aumento de los niveles de potasio hará que disminuyan las concentraciones ácidos orgánicos elevándose los niveles de pH en el mosto de partida (Gawel et al. 2000). Este hecho está relacionado con la reducción del color. El porcentaje total de antocianos en sus formas coloreadas disminuye a medida que aumenta el pH (Somers 1975) debido a que elevados niveles de pH favorecen la síntesis de antocianos hemiacetales, que son

incolores, reduciéndose así el color de los vinos tintos (Ribéreau-Gayon et al. 2003b). Un proceso similar ocurre durante el almacenamiento y crianza del vino. Durante el envejecimiento en barrica, además de la extracción de aromas y taninos, se pretende una lenta oxidación para que el vino pierda astringencia y mantenga sus características. Si los niveles de pH son elevados, no se producirá una correcta oxidación del vino, generándose formas libres de acetaldehído que harán que el vino adquiera colores pardos.

V.3.1.3. Efectos del CO₂

El CO₂ es el gas el principal causante del efecto invernadero. Sus concentraciones atmosféricas han aumentado notablemente en el último siglo. Es un compuesto que interviene directamente en el metabolismo de las plantas, por ello, un cambio en la concentración atmosférica influye en el desarrollo y crecimiento de la vid, así como en el rendimiento y composición del grano de uva.

En un estudio realizado por (Gonçalves et al. 2008) con la variedad Touriga Franca, cuyo objetivo era comprobar los efectos del aumento de la concentración de anhídrido carbónico en el aroma final del vino, los resultados no mostraron diferencias en cuanto a la composición aromática de las uvas maduras, en cambio, en el vino elaborado con estas uvas, sí se apreciaron diferencias en algunos compuestos, concretamente en los niveles de acetato de etilo y diacetilo, los cuales son aromas formados durante la fermentación. Se concluyó que las concentraciones de CO₂ tienen poca o ninguna repercusión en los compuestos aromáticos de la uva, pero sí que influyen en la formación de aromas secundarios en la fermentación.

En otro estudio más reciente, Kilmister et al. (2016) determinaron los efectos del CO₂ sobre el rendimiento de la vid y la composición de los granos de uva. El efecto primario del CO₂ en la planta es el aumento de la tasa fotosintética de las hojas. Esto conlleva al aumento de los niveles de carbohidratos que son consumidos en el metabolismo general, para el desarrollo de los órganos de la vid. Los resultados preliminares del estudio pusieron de manifiesto un aumento en el rendimiento de la variedad Syrah de un 25%, para una media de concentración de CO₂ de 650 ppm (concentración estimada para el año 2060). Este incremento en el rendimiento fue debido al aumento del número de granos en el racimo y al aumento de su tamaño. Por otro lado, el pH de las uvas tratadas con carbónico se redujo como consecuencia del aumento de la acidez. Esto podría considerarse como un factor positivo teniendo en cuenta la tendencia actual de aumento del pH de los vinos.

En general, estos estudios no dan una respuesta concluyente a la pregunta de si los posibles efectos negativos de las temperaturas más cálidas serían compensados por los efectos positivos del aumento de la concentración de CO₂ de forma global. Lo que parecen indicar es que el solapamiento de estos dos fenómenos, y teniendo en cuenta el incremento de la variabilidad del clima, también aumentará aún más la variabilidad interanual de los rendimientos, aunque sin garantizar la calidad del vino en los años buenos ni satisfacer la demanda de vino en los años malos, lo que implica un mayor riesgo económico para los productores (Moutinho-Pereira et al. 2009).

V.3.2. Medidas de adaptación

Las respuestas de adaptación frente al cambio climático en vitivinicultura pueden variar desde aquellas que se pongan en marcha a nivel de bodega, que pueden ser relativamente fáciles, baratas e inmediatas, pero que proporcionan un bajo potencial de adaptación; o aquellas a nivel del viñedo, que pueden resultar más caras y pueden llegar a plantear más dificultades, pero que a la vez tienen un potencial de adaptación más alto (Nicholas & Durham 2012). En el ámbito enológico, las innovaciones servirán para corregir oscilaciones de la calidad de la uva y en el vitícola servirán de forma preventiva para evitar los desequilibrios o pérdidas ocasionadas por las fluctuaciones del clima.

V.3.2.1. Estrategias enológicas

Las medidas de adaptación enológicas pueden ser consideradas como la primera estrategia de protección contra el cambio climático y se centrarán en amenazas específicas, con el objetivo de mejorar la producción. Estas medidas implican cambios en las prácticas en bodega, mediante el empleo de microorganismos mejor adaptados o la aplicación de nuevas tecnologías que pueden tener efectos positivos sobre la calidad del vino.

V.3.2.1.1. Técnicas para la corrección de parámetros generales del mosto

Como ya se ha descrito, una de las principales consecuencias del cambio climático sobre nuestra vitivinicultura son mostos con un pH elevado. Esto genera una disminución en la estabilidad microbiana que obliga a reforzar las dosis de sulfuroso, que a su vez pierde su eficacia con el aumento del pH. Si tenemos en cuenta que los niveles de sulfuroso permitidos cada vez son más bajos, los enólogos se ven en la obligación de emplear otros métodos para proteger los mostos. Immélé y Pagani (2014) sugieren el abandono del sulfuroso recurriendo a dosis específicas de flora nativa y a la restricción del oxígeno disponible como propuesta alternativa a la técnica del sulfitado.

La corrección de acidez generalmente es realizada mediante la adición de ácidos orgánicos, principalmente ácido tartárico. Sin embargo como consecuencia de niveles tan altos de pH las dosis permitidas ya no consiguen asegurar la estructura y estabilidad del vino en cualquier circunstancia. Por esta razón, se han permitido nuevas técnicas como el empleo de resinas de intercambio catiónico, permitidas desde el 2009 por la reglamentación comunitaria (CE) 606/2009. En principio esta técnica se autorizó para conseguir la estabilidad tartárica en el vino, frente al bitartrato potásico y al tartrato de calcio, pero al intercambiar cationes de potasio por cationes de hidrógeno, se produce un descenso del pH de los vinos tratados e indirectamente un incremento de la acidez. Las resinas intercambiadoras se encuentran reguladas por la OIV (OENO 43/2000), donde se exige que la disminución del pH no sea inferior 0,3 unidades y que el pH alcanzado después del tratamiento no sea menor a 3,0 entre otras (OIV 2011).

Los niveles adecuados de pH y acidez del mosto y del vino no favorecen la liberación de odorantes y además temperaturas altas favorecen las pérdidas de volátiles, por ello la hidrólisis enzimática es la forma más natural de potenciar el aroma.

Como se ha explicado anteriormente, una rápida acumulación de azúcares y la sobremaduración por temperaturas extremas hace que se generen mostos con elevado grado probable. Existen diversas técnicas para reducir el grado alcohólico de los vinos. Entre las más destacadas están la ósmosis inversa que consiste en la reducción de azúcares del mosto o etanol en el vino y la columna de conos rotativos (Spining Cone Column) que realiza una desalcoholización parcial del vino. Pero estos métodos pueden generar algunos inconvenientes que afectan a la calidad del vino, como la pérdida de aromas, incidencia del efecto térmico sobre la calidad sensorial del vino, disminución de compuestos derivados de la fermentación, etc., además de no ser naturales. En esta línea, varios grupos de investigación trabajan en la selección de cepas de levaduras, que de forma natural, produzcan un menor nivel de alcohol a partir de la misma cantidad de azúcares consumidos, como el uso de cepas *no-Saccharomyces* inoculadas de forma secuencial con cepas *Saccharomyces* ó el empleo de *Torulaspora delbrueckii* que parece mostrar buena aptitud para ser empleada durante las primeras etapas de la fermentación (Vejarano et al. 2012).

V.3.2.1.2. Técnicas para la mejora de la calidad organoléptica del vino

Es sabido que las variaciones climáticas pueden influir sobre el correcto desarrollo de los aromas varietales de la uva y pueden favorecer la síntesis de aromas indeseables durante la fermentación alcohólica alterando la calidad aromática del vino.

Las distintas técnicas desarrolladas antes, durante ó posteriores a la fermentación, influirán en la composición aromática final. Con el objetivo de mejorar la calidad organoléptica de los vinos resultantes, se han realizado numerosos estudios para evaluar esa influencia.

V.3.2.1.2.1. Maceración prefermentativa

La maceración prefermentativa se ha propuesto como técnica para tratar de aumentar la extracción de aromas varietales de los hollejos en distintas variedades blancas (Castro et al. 2002; Sánchez-Palomo et al. 2006; Chacon et al. 2009). Es una técnica ampliamente utilizada en la elaboración de vinos blancos jóvenes con el objetivo de realzar su perfil aromático mediante la cesión de precursores y aromas libres del hollejo al mosto antes de que comience la fermentación. El periodo de contacto requiere un control de la temperatura y del tiempo, en vinos blancos se recomiendan temperaturas entre 4 y 10 °C. Los efectos de la maceración van a depender de la variedad de uva, el estado de la cosecha y las condiciones de tiempo y temperatura empleados (Ramey et al. 1986; Marais & Rapp 1988; Falqué & Fernández 1996; Garcia-Romero et al. 1999). Durante la maceración, la concentración de aromas puede aumentar en el mosto pero no siempre se producen cambios a nivel sensorial en los vinos. Además, se corre cierto riesgo de aparición de aromas herbáceos, sabores amargos y demasiado color en los mostos. Por estas razones, las condiciones de temperatura y tiempo de contacto entre los hollejos y el mosto han de ser cuidadosamente escogidas.

V.3.2.1.2.2. Empleo de levaduras autóctonas

El empleo de levaduras autóctonas aisladas y seleccionadas en una región determinada para la realización de la fermentación alcohólica es un instrumento importante empleado con el objetivo de mejorar la calidad sensorial de los vinos. Las levaduras nativas son los microorganismos mejor adaptados a las características del terruño, clima y variedad de donde se han aislado y por lo tanto, pueden ser capaces de exaltar las características (aromas, estructura y color) del vino (Carrau 2005).

La fermentación con levaduras autóctonas, llamada fermentación espontánea, es de gran interés ya que con ella se consiguen características organolépticas típicas de la zona. Sin embargo, la calidad del producto puede ser muy variable de un año a otro, además, resulta complicado conocer con exactitud qué levaduras están actuando. Para evitar esta variabilidad, se empezaron a utilizar levaduras comerciales secas activas (LSA de cepas de *Saccharomyces*). La inoculación con LSA favorece un rápido inicio de la fermentación y un consumo total de los azúcares fermentables (Longo et al. 1991). Se ha demostrado que con su empleo se obtiene un producto de calidad uniforme a lo largo de las diferentes vendimias (Heard & Fleet 1985; Ribéreau-Gayon 1985), sin embargo, algunos enólogos consideran que se pierde el carácter diferencial de las cosechas, ocurre una uniformidad aromática y el carácter varietal pierde riqueza sensorial (Carrau et al. 1988; Ramey 1996).

Para evitar esta pérdida de tipicidad hoy día se tiende a seleccionar cepas autóctonas que están muy bien adaptadas a cada región productora de vino y, por tanto, a las condiciones climáticas, a las variedades de uvas de cada zona y a los mostos obtenidos de ellas y a las prácticas y técnicas de vinificación utilizadas (Heard 1999). Estas cepas serán las responsables, en parte, de las características sensoriales de los vinos obtenidos en cada región.

V.3.2.1.2.3. Crianza sobre lías

Las lías son una mezcla de sedimentos formados por levaduras que se asientan en la parte inferior de los depósitos de fermentación alcohólica (Bueno et al. 2006).

El envejecimiento del vino sobre las lías de las levaduras es una técnica ampliamente utilizada que está asociada a la mejora de las propiedades organolépticas del vino. Esta técnica se basa en la autólisis de las levaduras, en la que se produce la autodegradación enzimática de los constituyentes celulares y que comienza inmediatamente después de la muerte de las levaduras. Es una técnica usada hace décadas principalmente en la elaboración de vinos blancos. Su objetivo fundamental es la mejora de la calidad de los vinos desde el punto de vista sensorial (Feuillat 2001; Fornairon-Bonnefond et al. 2002; Feuillat 2003; Charpentier et al. 2004; Pérez-Bibbins et al. 2015) reduciendo la astringencia y amargor, aumentando el cuerpo, la estructura y redondez en boca, y aumentando la persistencia y complejidad aromática mediante la liberación de péptidos, aminoácidos, esteroides y polisacáridos al vino, que son los responsables de la estabilidad del color, la disminución de la astringencia, protección del vino frente a la oxidación, mayor complejidad del aroma y flavor, etc. de los vinos envejecidos sobre lías (Doco et al. 2003; Gonzalez-Ramos & Cebollero 2008). El principal factor condicionante e imprescindible para permitir la autólisis celular es el

tiempo. Se estima que el proceso se inicia nada más morir la célula, siendo a partir del segundo mes cuando la actividad es mayor.

El proceso de autólisis es lento debido a que las condiciones en las que suele realizarse no son las idóneas ($\text{pH} \approx 3,5$ y $T \approx 15^\circ\text{C}$) e implica riesgos microbiológicos y organolépticos (Fornairon-Bonnefond et al. 2002). Por ello, la crianza sobre lías se combina con el “batonnage”, técnica que consiste en remover el vino cada cierto periodo de tiempo para mejorar el contacto de las lías con el vino y ayudar a la liberación más rápida de las manoproteínas de las levaduras (Doco et al. 2003).

Durante la autólisis de las levaduras también se liberan otros compuestos como aminoácidos y/o lípidos que pueden ser precursores aromáticos, mejorando la fracción aromática de los vinos. Los lípidos liberados de estas levaduras pueden favorecer la formación de ésteres y aldehídos volátiles (Charpentier & Feuillat 1993). También se ha comprobado que la presencia de lías incrementa el aroma varietal (Herjavec et al. 2007). Además, las lías pueden adsorber diferentes compuestos volátiles que son causantes de defectos organolépticos en los vinos, como es el caso de los etilfenoles (Chassagne et al. 2005; Pradelles et al. 2008).

Las lías consumen oxígeno durante todo el proceso. Esto es interesante porque actúan protegiendo al vino de la oxidación polifenólica y aromática, ya que al ser el oxígeno consumido mayoritariamente por las lías, las moléculas responsables del color y del aroma no se oxidarán, o lo hacen en menor grado. Pero el consumo de oxígeno también puede conllevar riesgos de aparición de olores a reducción (Chatonnet 2000; Feuillat 2001) si la crianza se realiza en ausencia de oxígeno, por lo que el tiempo de contacto con las lías debe ser controlado.

V.3.2.2. Estrategias vitícolas

Las medidas de adaptación sobre el viñedo se basan en modificar de alguna forma la gestión de la viña con el objetivo ayudar a mejorar la adaptación ante variaciones pronunciadas en el clima. Estas prácticas implican más esfuerzo y pueden influir en el cultivo de diversas formas. Consisten en introducir cambios en las técnicas de cultivo para de tratar de evitar maduraciones precoces, reducir los excesos térmicos, evitar el déficit hídrico excesivo y minimizar la pérdida de suelo por escorrentía.

El efecto que distintas prácticas de cultivo de la vid tienen sobre la composición aromática de la uva, también ha sido estudiado por varios autores. A continuación se realiza una revisión de las principales prácticas agronómicas y su influencia sobre el componente aromático de la uva.

V.3.2.2.1. Prácticas culturales

Se pueden realizar una serie de operaciones sobre el viñedo con el objetivo contrarrestar posibles maduraciones precoces que aceleren y favorezcan la rápida acumulación de fotoasimilados.

V.3.2.2.1.1. Sistema de conducción y poda

Cambios en los sistemas de poda y conducción del viñedo pueden ayudar a mejorar la protección de los racimos contra la insolación excesiva. Así, con el objetivo de aumentar la radiación solar recibida por el panel de vegetación y para mantener un microclima luminoso y térmico óptimo en los racimos, los sistemas de conducción se han ido modificando a lo largo de la historia de la vid (Spayd et al. 2002).

Una forma de adaptación frente al estrés térmico es el empleo de sistemas de conducción más libres frente a sistemas de conducción vertical y alineados tipo espaldera. En climas cálidos, los excesos de radiación y temperatura durante la maduración de los racimos, pueden llegar a producir problemas de sobremaduración y pasificación de la baya, por ello, resulta fundamental mejorar el microclima de racimos mediante el manejo del plano de vegetación para alcanzar una correcta maduración del fruto. Para ello, algunos autores defienden el empleo de sistemas con vasos abiertos ó sistemas desparramados para evitar una excesiva exposición atenuando el microclima térmico y reduciendo así el riesgo de sobremaduración (De la Fuente et al. 2007; Palliotti et al. 2014).

El vaso es un modo de conducción en el que las plantas radican en un tronco sobre el que se insertan los elementos vegetativos que forman brazos dispuestos en forma radial. Además no tiene ningún soporte para conducir la vegetación la cual se dispone de forma libre globular. En la mayoría de los casos, las cepas suelen estar constituidas por brazos cortos dispuestos también en forma radial sin apoyos y podados generalmente en pulgares (Figura 13). La espaldera, es un sistema de conducción vertical, con un empalizamiento para conducir la vegetación de forma lineal, continua y poco espaciada. Esto influye decisivamente en el grado de sombreado del canopy (Smart 1985b), la cantidad de radiación recibida y la temperatura acumulada de los racimos, modificando así el crecimiento de la vid y variando el metabolismo de las hojas (Dokoozlian & Kliewer 1995a; Dokoozlian & Kliewer 1995b). En la mayoría de los casos, su estructura está formada, además del tronco, por cordones permanentes podados en pulgares o por varas de renovación anual, apoyados en un alambre de formación (Figura 13).



Figura 13. De izquierda a derecha viñedos con sistema de conducción en vaso y espaldera

Con respecto a la poda, un retraso en la fecha, llegando a realizarse incluso después de la brotación, podría favorecer un retraso en la fecha de vendimia. En un estudio realizado sobre la variedad

Merlot cultivada en California, Sipiora (2009) señala que realizar la poda en el momento que comienza la brotación de las yemas, hace que se pueda retrasar la fecha de maduración en torno a una semana.

La poda controla la carga de la cepa e influye en el número de racimos y el tamaño de las bayas. La realización de podas manuales con una elevada carga de yemas altas durante el invierno que generen alta densidad de pámpanos y racimos en primavera dará lugar a plantas con menos vigor retrasándose tanto el ciclo vegetativo como el reproductor. También se puede proceder a la eliminación de pámpanos para disminuir la producción de uva del viñedo y la densidad de la vegetación ajustándose así la relación superficie foliar/producción de uva consiguiéndose una maduración más lenta (Pool et al. 1978). Sin embargo, una poda que deja muchas yemas (15-20 yemas/m) en Pinot Noir produce una calidad peor en los vinos que una poda con 10 yemas/m (Reynolds et al. 1996b). Una elevada densidad de vegetación (15-20 sarmientos/m) reduce el aroma frutal y aumenta el herbáceo (Marais et al. 1999). Viñas Syrah sin poder retrasaron la maduración y tuvieron un bajo contenido en glicósidos debido a la alta producción y a la baja exposición de los racimos al sol (Botting et al. 1996). La orientación de la viña también influye en la calidad aromática ya que la insolación puede ser diferente.

V.3.2.2.1.2. El deshojado

El deshojado del viñedo, que consiste en la supresión parcial de las hojas basales o apicales de los pámpanos, puede servir para ayudar a retrasar la fecha de vendimia y mejorar la calidad de las uvas ya que procura conseguir dos efectos: disminuir la superficie foliar y aumentar la iluminación de los órganos que permanecen, lo que hace que su efecto sobre la calidad de la vendimia dependa del momento de aplicación. Durante el periodo anterior y posterior a la floración, las hojas basales adultas de los pámpanos, son la principal fuente de nutrientes que garantizan el cuajado, por lo que la eliminación de estas hojas adultas reduce la disponibilidad de azúcares de la inflorescencia, limitando el cuajado y/o el desarrollo inicial de la baya, y por tanto su tamaño final. Esto origina racimos menos compactos y más sanos, a la vez que causa un efecto en el microclima de hojas y frutos.

El deshoje en periodo de crecimiento es nocivo al rendimiento pero favorable a la calidad, sin embargo, el deshoje en periodo de madurez disminuye el rendimiento y la calidad de la uva (Hidalgo 1999). El mismo autor opina que los efectos nocivos son menores e incluso se tornan beneficiosos, si el tratamiento se hace días antes de la vendimia, recomendando una supresión de 3 a 5 hojas por pámpano. Se cita alguna ventaja del deshojado como es un mayor rendimiento en la vendimia manual, estimada entre un 20-40%. Puede producir un incremento de azúcares al haber mayor transpiración, también una pérdida de acidez y la coloración de las bayas ofrece resultados varios, incluso opuestos. En zonas frías se recomienda practicarlo después del cuajado y en zonas cálidas después del envero.

Stoll et al. (2010) demostraron que la reducción de la superficie foliar afectaba en gran medida el proceso de senescencia de la hoja consiguiendo retrasar la velocidad de maduración en la variedad Riesling entre quince y veinte días. En otras experiencias recientes en la Comunidad de Madrid (Crespo et al. 2016a), con deshojado severo después del envero (supresión de 8 hojas basales), se llegaron a detectar

retrasos en la vendimia de entre 15 y 20 días sin afectar al correcto desarrollo de la maduración ya que no se encontraron diferencias notables en los parámetros tecnológicos de maduración entre las muestras deshojadas y las no deshojadas. Además, los vinos resultantes de las muestras deshojadas contenían mayores niveles de volátiles analizados frente al control. Palliotti et al. (2013) también consiguieron retrasar la acumulación de azúcares en la variedad Sangiovese mediante la realización de deshojados después del envero, logrando que las concentraciones de compuestos fenólicos totales en las uvas, las características químicas y cromáticas de los vinos, la reposición de azúcares solubles y el nitrógeno total en las raíces fuese similar en las cepas deshojadas y las no deshojadas.

En la bibliografía se detalla algunos otros efectos del deshojado. Así, Lavín y Pardo (2001) encontraron que tanto las cepas deshojadas durante el cuajado, como después del envero, tenían una acidez mayor que el testigo. Además, informaron que no observaron efectos negativos en cuanto a obtener una buena maduración y producción durante su estudio. Yuste et al. (2004), reportaron que las bayas procedentes de racimos sombreados tenían mayor volumen que las procedentes de los racimos expuestos, ya que éstos tenían una transpiración del grano más intensa.

Por otro lado, en cuanto a la síntesis de compuestos aromáticos durante la maduración, numerosos estudios concluyen un mayor desarrollo de precursores aromáticos y varietales libres como efecto del deshojado. Reynolds y Wardle (1989) concluyeron que una menor cantidad de cosecha y la exposición del racimo podían ser factores determinantes en la cantidad de monoterpenos. Observaron un aumento en el nivel de monoterpenos ligados y libres en la variedad Gewurztraminer al someterla a una disminución en el nivel de cosecha y a la retirada de hojas basales. Smith et al. (1988) encontraron un aumento de monoterpenos al retirar hojas basales en Sauvignon Blanc y Otero et al. (2010), que realizaron deshojados sobre la variedad Albariño en distintos periodos, encontraron diferencias significativas en 14 de los 36 compuestos analizados frente al control sin deshojar. Concluyeron que el deshojado precoz había aumentado la composición volátil del vino Albariño.

Por tanto, el empleo del deshojado como técnica para reducir la capacidad fotosintética de la vid podría ser ventajoso en ciertas regiones para retrasar el periodo de maduración de la uva.

V.3.2.2.1.3. Doble vendimia

La aplicación de la técnica de “doble vendimia” (Martínez de Toda & Balda 2011b), días después del envero, es una práctica empleada recientemente con el objetivo de obtener uvas con menor carga de azúcares obteniéndose mostos con menor grado probable y por tanto vinos con menos grado alcohólico.

Esta técnica consiste en realizar dos vendimias por medio de aclareos de racimos con el fin de conseguir una uva más equilibrada, de calidad suficiente, con menor contenido en azúcares y mayor contenido aromático.

El aclareo de racimos en Pinot Noir produjo vinos con un aroma menos vegetal (Reynolds et al. 1996b).

V.3.2.2.2. Manejo del suelo y gestión del riego

El manejo del suelo mediante el desarrollo de cubiertas vegetales o laboreos mínimos son las prácticas más adecuadas para evitar las pérdidas de suelo por erosión ante las lluvias torrenciales (Kroodsmá & Field 2006). El empleo de cubiertas vegetales ofrece ciertas ventajas frente al laboreo tradicional ya que se trata de un sistema eficaz en los modelos de agricultura sostenible (Ingelmo 1998).

Las cubiertas ayudan a reducir el vigor de la planta debido a la competencia con el cultivo por el agua disponible en el suelo, lo que las hace inviables en las zonas áridas. Resultados recientes muestran la capacidad de estas cubiertas para lograr un equilibrio entre el rendimiento y el desarrollo vegetativo de la vid, mejorando el microclima de la cepa y la carga polifenólica de los vinos (Pascual et al. 2010).

También se puede realizar un mantenimiento de suelo sin laboreo mediante el empleo de herbicidas, se reduce el trabajo pero elimina la competencia de la vid con la flora adventicia.

Para realizar una correcta fertilización del suelo es necesario conocer la edad, el tipo de suelo y, sobretudo, la disponibilidad de nutrientes esenciales. El potasio es el nutriente que más demandan las cepas. Tiene gran importancia en el correcto desarrollo de la uva puesto que actúa como estimulante de la fotosíntesis y potencia la síntesis de aromas, en especial terpenos y fenoles. Sin embargo, un exceso puede tener efectos adversos sobre el correcto desarrollo de aromas y polifenoles. El potasio es un elemento antagónico con el magnesio de modo que un exceso de cualquiera de ellos inhibe la asimilación del otro. Esto puede provocar un estado carencial del elemento más deficitario, aun cuando existan en el suelo niveles de ambos que en condiciones normales se considerarían suficientes (Ruhl et al. 1992). La carencia de manganeso en viña produce deficiencias en el cuajado, disminución del vigor de las cepas y disminución de la fertilidad de las yemas, teniendo también efectos importantes en la calidad de la vendimia ya que hace disminuir la cantidad de azúcar al no permitir la adecuada maduración de las uvas, que se retrasa notablemente. La carencia de manganeso también disminuye el volumen de las bayas así como el aroma del mosto y del vino, especialmente al reducirse la síntesis de carotenoides.

El nitrógeno es otro nutriente esencial para la vid. Un elevado contenido en nitrógeno en los suelos aumenta el vigor de la planta dando lugar a vinos de menor calidad aromática puesto que el exceso de vegetación dificulta la insolación favoreciendo la acumulación de aromas herbáceos y disminuyendo los florales y frutales. Esto va a depender principalmente en cómo incide el ión amonio en el transporte de aminoácidos que serán transformados por las levaduras en alcoholes y sus ésteres. Así, Ough y Lee (1981) observaron un aumento del acetato de isoamilo y un descenso del acetato de 2-feniletilo cuando se incrementaba la fertilización nitrogenada mientras que otros autores sólo apreciaron un aumento en el último éster.

El riego es otra estrategia fundamental en la gestión del viñedo, no solo a efectos de control de excesivas sequías, sino también para controlar los posibles daños que puedan causar las olas de calor, sobretudo, en regiones cálidas (Webb et al. 2009). Para la mejora de su gestión, deberían establecerse métodos de control para evitar el consumo de agua excesivo y asegurar la calidad de la cosecha mediante

el empleo de estrategias de riego deficitario y con el uso de indicadores del estado hídrico a nivel del suelo y la planta (Cifre et al. 2005; Fereres & Evans 2006; Marsal et al. 2008; Martínez-Santos & Llamas 2008).

El efecto que el riego moderado tiene en el potencial aromático ha sido evaluado en las variedades españolas Tempranillo y Manto Negro. Escalona et al. (1998) observaron diferencias claras en el potencial aromático entre los dos cultivos y tratamientos (secano, riego) cuando fueron sometidos a irrigación. El potencial aromático se incrementó en torno al 20-30 % en la variedad Manto Negro, y entorno al 40-60 % en la Tempranillo.

V.3.2.2.3. Empleo de nuevas variedades y cambios en la ubicación del viñedo

Estas medidas incluyen cambios en las variedades cultivadas por otras mejor adaptadas a las nuevas condiciones climáticas y cambios en la ubicación de los viñedos buscando localizaciones más frescas.

En relación al empleo de variedades foráneas, éstas deberán estar bien adaptadas a excesos de insolación y temperatura y, a ser posible, a la sequía, buscando material vegetal con ciclos más largos. Con esta medida se corre el riesgo de perder las características típicas de los vinos tradicionales de la zona. Para evitar esta situación, se puede recurrir a la búsqueda de lugares con mejores aptitudes climáticas para desarrollar el cultivo de la vid y/o a la búsqueda de biotipos que mejor se pueden adaptar a las nuevas condiciones y con ello seguir manteniendo la actividad vitivinícola de región y la tipicidad de los vinos. En un estudio de Martínez de Toda (2011a) queda reflejada la gran amplitud de diversidad intravarietal que ofrece la variedad Tempranillo donde 532 biotipos de dicha variedad cultivados en las mismas condiciones, presentan gran variabilidad en lo referente al grado de alcohol probable, quedando demostrado que el material genético también puede ofrecer alternativas al cambio climático.

Cambios a sitios más frescos, a altitudes y latitudes más altas, implican cambios en las condiciones del viñedo. Las plantaciones en zonas cálidas, estarían mejor situadas en valles frescos o en laderas expuestas con orientación N-E, tratando de evitar las laderas de exposición a mediodía y poniente que acentúan las altas temperaturas. Ruiz (2011) sugiere que las filas de los viñedos podrían desviarse ligeramente al este buscando el resguardo durante las horas más calurosas de la tarde cuando las hojas se encuentran en un estado hídrico más desfavorable.

Como se ha visto, el clima juega un papel determinante como regulador de los procesos que se dan en el ciclo de la vid, así, el desarrollo vegetativo y la maduración del fruto podrían considerarse una respuesta de adaptación a las condiciones climáticas. Por tanto, conocer los efectos de las variaciones del clima sobre la calidad de la uva y la evaluación de la influencia de las técnicas vitivinícolas ensayadas nos ha permitido obtener conclusiones prácticas para actuar frente a los retos que plantea el cambio climático con el objetivo de preservar o mejorar las características organolépticas de los vinos blancos en la D.O. “Vinos de Madrid”.





VI.

**MATERIALES Y
MÉTODOS**

VI.1. PLAN DE TRABAJO

Para cumplir con los objetivos fijados, la presente tesis se ha abordado desde dos áreas:

1. La elección de las variedades de estudio, parcelas y técnicas vitícolas y enológicas a efectuar.

La experimentación se ha centrado en la selección de variedades existentes en la Comunidad de Madrid, todas ellas localizadas en parcelas situadas en Subzonas pertenecientes a la D.O. “Vinos de Madrid” (apartado VI.2). La selección se realizó en base a criterios de calidad aromática y enológica, en el caso de Moscatel de Grano Menudo (ya autorizada en la D.O. “Vinos de Madrid”) y las variedades experimentales Malvasía Aromática y Moscatel de para tratar de cumplir con los objetivos I.1, I.2 y I.3. La variedad Albillo Real se seleccionó por su larga tradición e interés enológico actual como varietal en la Comunidad de Madrid para cumplir con los objetivos I.2, I.3 y II.1.

Los criterios de selección de las técnicas enológicas de elaboración se establecieron según las características de las variedades para cumplir con los objetivos de protección y mejora de la calidad organoléptica de los vinos blancos (I.2). En el caso de las prácticas vitícolas a estudiar, la elección se realizó en función de las características climáticas y condiciones del viñedo de las parcelas de estudio para cumplir con el objetivo I.3. La metodología empleada para la realización del deshojado se desarrollará en el apartado VI.2.3 de materiales y métodos.

2. Estudio de la madurez tecnológica y aromática de las uvas y la evaluación físico-química, aromática y sensorial de los vinos.

- a. Estudio de la madurez tecnológica y aromática de las uvas

El análisis de aromas de las uvas se ha centrado en la determinación de precursores aromáticos varietales mediante el empleo de dos técnicas: hidrólisis enzimática y determinación analítica por Cromatografía de Gases Espectrometría de Masas (GC-MS) (Schneider et al. 2004) e hidrólisis ácida y determinación del Índice de Potencial Aromático Varietal (IPAv) por Espectrofotometría UV-Vis (Salinas et al. 2012; Serrano de la Hoz et al. 2014b).

También se llevó a cabo un control de la madurez tecnológica mediante el estudio de parámetros enológicos generales empleando los métodos propuestos por la OIV (OIV 2012) para determinar la fecha de vendimia en cada ensayo.

La metodología para estas determinaciones será abordada en los puntos VI.4.2 y VI.4.3.

- b. Evaluación físico-química, aromática y sensorial de los vinos

El estudio de los aromas de los vinos resultantes de las distintas experiencias se realizó mediante cromatografía de gases empleando dos técnicas de análisis: Cromatografía de Gases acoplada a detección con FID (Ortega et al. 2001) y detección por Espectrometría de Masas (Yuan & Qian 2016) (GC-FID y GC-MS). Se determinaron compuestos volátiles varietales y aquellos generados durante la fermentación alcohólica que tuvieran impacto sobre el aroma del vino. Para ello se diseñó un protocolo de análisis en diferentes momentos de la vinificación: al finalizar la fermentación alcohólica y a los 6 meses después del embotellado.

Además se realizaba un análisis sensorial mediante pruebas descriptivas y discriminantes triangulares en la primavera siguiente a la finalización de las vinificaciones en cada año para valorar la calidad organoléptica de los vinos.

Los métodos de análisis de aromas, parámetros físico-químicos y características sensoriales de los vinos serán descritos en los puntos VI.4.3.2, VI.4.5 y VI.5 respectivamente.

VI.2. EXPERIMENTACIÓN EN CAMPO

VI.2.1. Características de los viñedos y variedades elegidas

Las fincas en las que se ha realizado este estudio se encuentran distribuidas en distintos términos municipales de las Subzonas de Arganda y San Martín de Valdeiglesias de la D.O. “Vinos de Madrid”.

VI.2.1.1. Parcelas en la Subzona de Arganda

VI.2.1.1.1. Finca experimental “El Encín”

La parcela de las variedades de estudio Moscatel de Grano Menudo (sin. Muscat a petit grains blancs) y Moscatel de Alejandría (sin. Muscat of Alexandria), se encuentra situada en la finca experimental de “El Encín” perteneciente al Instituto Madrileño de Investigación y Desarrollo Rural, Agrario y Alimentario (IMIDRA), en el municipio madrileño de Alcalá de Henares (40°31'N, 3°17'W, 605 m altitud), encuadrado dentro de la subzona de Arganda (Figura 14).

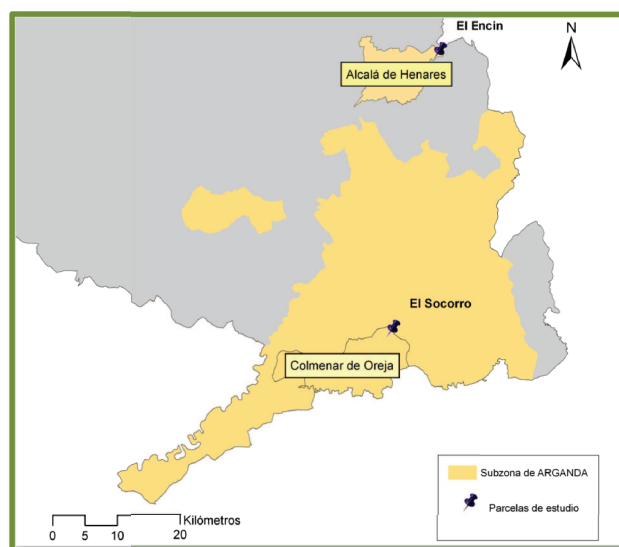


Figura 14. Situación de las parcelas de las variedades Moscatel y Malvasía en la Subzona de Arganda de la D.O. “Vinos de Madrid”.

Las cepas se podaron entre los meses de diciembre y marzo con un sistema en cordón Royat simple dejando cuatro pulgares con ocho yemas por planta con un marco de plantación de 2,50 m x 0,90 m. El sistema de conducción era en espaldera con orientación suroeste-noreste. La parcela se injertó en 2003 sobre Richter 110. Las cepas se regaron mediante un sistema de riego localizado por goteo con goteros cada 75 cm con un caudal 4 l/h. Durante el mes de mayo se realizó una poda en verde y los pámpanos se despuntaron en el mes de julio.

VI.2.1.1.2. Finca experimental “El Socorro”

La variedad Malvasía Aromática (sin. Malvasia di Sardegna) se encontraba en la parcela nº 22 de la finca experimental “El Socorro” perteneciente al Instituto Madrileño de Investigación y Desarrollo Rural, Agrario y Alimentario (IMIDRA), situada en Colmenar de Oreja, Madrid (40°8'N, 3°22'W, 715 m altitud), en la subzona de Arganda (Figura 14). El viñedo se asentaba sobre un suelo alcalino de textura franco arcilloso con orientación noroeste-sureste.

La poda se realizó entre los meses de febrero y marzo con un sistema en doble cordón Royat dejando cuatro pulgares con dos yemas, conducción en espaldera e injertadas en SO4 (Selection Oppenheim 4). El sistema de conducción consistía en un cordón bilateral de 60 cm de altura con los pámpanos recogidos entre dos alambres. El marco de plantación era 2,5 x 1,5 m con un sistema de riego por goteo mediante goteros cada 75 cm con un caudal de 2,2 l/h. Se realizó una poda en verde durante el mes de mayo y despunte de los pámpanos en el mes de junio.

VI.2.1.1.3. Parcelas de la Subzona San Martín

El estudio de la variedad de vid Albillo Real se realizó en cinco fincas repartidas en la subzona de San Martín en los municipios de Cadalso de los Vidrios y San Martín de Valdeiglesias (Figura 15).

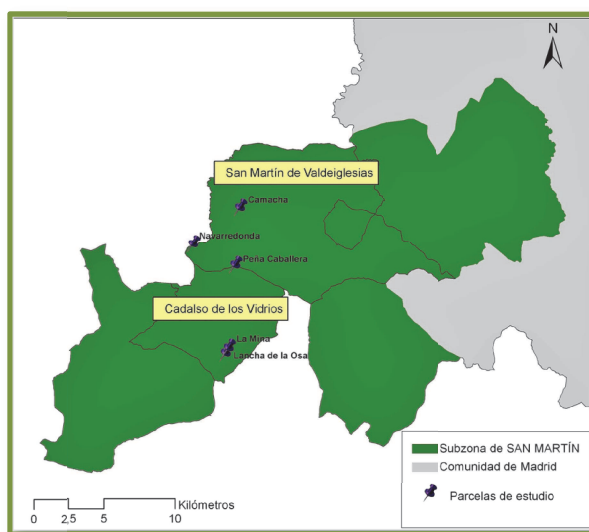


Figura 15. Situación de las parcelas de la variedad Albillo en la Subzona de San Martín de la D.O. “Vinos de Madrid”.

A continuación se describen las características de las parcelas (Figura 16):

VI.2.1.1.4. La Mina

La parcela de La Mina se sitúa en el término municipal de Cadalso de los Vidrios, Madrid (40° 16'N, 4° 25'W, 660 m altitud). El viñedo está en suave ladera descendente con orientación al suroeste. Era una plantación de 2002 con un sistema de conducción en espaldera formada en cordón Royat con dos brazos sujetos en un alambre. La poda se realizó entre los meses de febrero y marzo con tres pulgares por brazo a dos yemas por pulgar. El marco de plantación era de 2,90 x 1,50 m injertadas sobre 99 Richter. Se realizó un despunte en el mes de junio.

VI.2.1.1.5. Lancha de la Osa

La parcela de Lancha de la Osa situada en el término municipal de Cadalso de los Vidrios, Madrid (40° 16'N, 4° 25'W, 700 m altitud) es un viñedo tradicional formado por cepas de más de treinta años con una técnica de poda en vaso que da lugar a un sistema de conducción de porte bajo con tres o cuatro brazos por cepa dispuestos de forma radial sin soporte externo. Se encontraba en una ladera orientada al suroeste. El marco de plantación era de 2,40 x 2,40 m injertadas sobre Rupestris de Lot, Riparia Gloria de Montpellier y Paulsen. Se realizó un despunte en el mes de junio.

VI.2.1.1.6. Peña Caballera

Peña Caballera es una parcela situada en el término municipal de San Martín de Valdeiglesias, Madrid (40° 19'N, 4° 25'W, 770 m altitud). Las vides se disponían en una ladera con orientación norte. Se trataba de un viñedo tradicional formado por cepas de más de 60 años con un marco real de plantación de 2,40 x 2,40 m injertadas sobre tres tipos de portainjertos: Paulsen, Richter y Rupestris de Lot. La poda, en vaso, se realizaba en el mes de marzo, dejando cuatro yemas nuevas y pulgares tradicionales procedentes de brotes de la primavera anterior con conducción en vaso.

VI.2.1.1.7. Camacha

El viñedo Camacha se encuentra situado en el término municipal de San Martín de Valdeiglesias, Madrid (40° 22'N, 4° 25'W, 715 m altitud). Era una viña tradicional, formada por cepas de más de 80 años con sistema de poda y conducción en vaso situado en una ladera con orientación suroeste. Las cepas se podaron en el mes de febrero y fueron injertadas en Rupestris de Lot con un marco real de 2,30 x 2,30 m. Se realizaba un despunte a finales del mes de mayo.

VI.2.1.1.8. Navarredonda

La finca se encuentra en el término municipal de San Martín de Valdeiglesias, Madrid (40° 20'N, 4° 27'W, 660 m altitud). Se trata de un viñedo tradicional sobre un suelo fértil, de vega, con cepas viejas muy vigorosas de abundante follaje dispuestas en espaldera creciendo en dos brazos sujetos por un alambre y

con orientación noroeste-sureste. Se realizaba una poda en el mes de febrero y un despunte durante el mes de junio-julio.

Las cinco plantaciones eran de secano.



Figura 16. Parcelas de la variedad Albillo. De izquierda a derecha: (A) viñedos en espaldera de las fincas La Mina y Navarredonda. (B) viñedos en vaso de las fincas Camacha, Peña Caballera y Lancha de la Osa.

VI.2.2. Características climáticas

La caracterización del clima durante los diferentes años de experimentación en cada parcela se ha llevado a cabo a partir de los datos recogidos por las estaciones climáticas de La Finca “El Encín”, Alcalá de Henares (Tabla 3) y Rozas de Puerto Real (Tabla 4) pertenecientes a la Agencia Estatal de Meteorología de España (AEMET) y localizadas en la Comunidad de Madrid. Ambas se encontraban muy cerca de los viñedos. La estación de El Encín se empleó en la recogida de datos de la finca experimental del mismo nombre y la de Rozas de Puerto Real, muy próxima a Cadalso de los Vidrios y San Martín de Valdeiglesias, para la toma de datos de las cinco parcelas de Albillo Real. Registraban datos de temperatura y precipitaciones. Solamente se han incluido los datos meteorológicos que corresponden a la estación vegetativa, 1 de abril hasta el 30 de octubre para cada año de estudio.

Tabla 3. Parámetros climáticos durante la estación vegetativa (1 de abril- 30 de octubre) durante los años 2013, 2014, 2015, y 2016 en la estación meteorológica de la Finca “El Encín”, Alcalá de Henares. Las temperaturas máximas y mínimas corresponden a las medias mensuales.

Año	Parámetro	Mes							Periodo vegetativo			
		Abr	May	Jun	Jul	Ago	Sep	Oct	Media	Máx.	Mín.	Acum.
2013	T Media (°C)	10,6	12,7	20,8	27,2	26,5	20,8	15,0	19,1	30,5	4,3	-
	T Máxima (°C)	16,8	20,0	29,1	35,9	35,2	28,5	21,1	26,7	39,0	9,0	-
	T Mínima (°C)	4,4	5,2	12,5	18,4	17,8	13,2	8,8	11,5	25,0	-3,0	-
	Precipitaciones (mm)	35,8	35,9	35,10	35,11	35,12	35,13	35,14	-	-	-	142,8
2014	T Media (°C)	15,2	17,9	22,0	24,1	24,9	21,2	17,4	20,4	30,3	8,8	-
	T Máxima (°C)	22	25,4	30	32,5	33,4	28,7	23,9	28,0	39,0	14,0	-
	T Mínima (°C)	8,3	10,4	13,9	15,7	16,3	13,7	11	12,8	22,5	4,0	-
	Precipitaciones (mm)	33,1	6,6	29,9	34,4	0,0	12,0	71,9	-	-	-	187,9
2015	T Media (°C)	13,7	19,4	23,7	29,0	25,7	19,8	15,3	20,9	32,0	8,5	-
	T Máxima (°C)	21	28	32,2	37,8	33,8	27,7	21	28,8	42,0	12,0	-
	T Mínima (°C)	6,4	10,8	15,2	20,2	17,5	11,9	9,5	13,1	25,5	2,0	-
	Precipitaciones (mm)	32,8	1,0	37,8	3,5	6,2	18,2	35,7	-	-	-	135,2
2016	T Media (°C)	11,6	15,2	22,3	26,8	26,2	21,8	16,6	20,1	30,5	6,5	-
	T Máxima (°C)	17,5	21,9	31,1	36,1	35,3	30,3	23,4	27,9	40,0	10,5	-
	T Mínima (°C)	5,8	8,4	13,6	17,5	17,1	13,3	9,8	12,2	24,0	-2,0	-
	Precipitaciones (mm)	104,4	71,8	6,6	11,6	0,0	13,5	59,9	-	-	-	267,8

Tabla 4. Parámetros climáticos durante la estación vegetativa (1 de abril- 30 de octubre) durante los años 2014, 2015, y 2016 en la estación meteorológica de Rozas de Puerto Real (40°18'N, 4°29'W, 882 m altitud, Madrid. Las temperaturas máximas y mínimas corresponden a las medias mensuales.

Año	Parámetro	Mes							Periodo vegetativo			
		Abr	May	Jun	Jul	Ago	Sep	Oct	Media	Máx.	Mín.	Acum.
2014	T Media (°C)	12,1	14,3	17,7	21,2	21,3	16,5	15,6	17,0	26,5	6,0	-
	T Máxima (°C)	16,5	20,3	23,5	27,6	27,7	20,6	19,2	22,2	34,0	9,0	-
	T Mínima (°C)	7,6	8,4	12,0	14,8	14,8	12,4	12,0	11,7	20,0	3,0	-
	Precipitaciones (mm)	33,9	16,4	3,9	12,5	0,5	85,6	112,8	-	-	-	265,6
2015	T Media (°C)	11,0	16,7	25,5	26,4	22,9	16,5	12,3	18,7	31,4	5,0	-
	T Máxima (°C)	15,0	22,0	32,6	31,8	28,8	20,9	14,3	23,6	41,3	6,0	-
	T Mínima (°C)	6,9	11,5	15,6	20,9	16,9	12,1	10,2	13,5	25,0	4,0	-
	Precipitaciones (mm)	58,4	2,7	14,0	0	15	18,3	115,5	-	-	-	223,9
2016	T Media (°C)	9,2	12,9	19,0	24,5	24,3	19,8	15,3	17,8	28,0	5,2	-
	T Máxima (°C)	12,9	17,5	25,7	32,0	31,7	26,4	20,0	23,7	35,8	7,3	-
	T Mínima (°C)	5,4	8,2	12,2	16,9	16,9	13,2	10,6	11,9	20,8	0,4	-
	Precipitaciones (mm)	127,8	92	0,8	12,6	0	3,2	119,4	-	-	-	355,8

VI.2.3. Prácticas vitícolas. Ejecución del deshojado

Los ensayos de deshojado se realizaron durante los años 2015 y 2016 (Tabla 5) en los cultivos Moscatel de Grano Menudo, Moscatel de Alejandría y Albillo (Finca La Mina). Para los tres cultivos, en los dos años consecutivos, se siguió un diseño experimental de bloques al azar para cada tratamiento: control y deshojado. El tamaño de la parcela experimental fue distinto para cada variedad:

- Moscatel de Alejandría. Del total de 55 cepas repartidas en 4 bloques, se eligieron de forma proporcional al tamaño de cada bloque la mitad de las cepas para cada tratamiento (13 deshojadas y 12 control).
- Moscatel de Grano Menudo. En dos filas de 150 cepas cada una, se seleccionaron tres bloques alternos de 30 cepas cada uno que fueron destinadas al tratamiento de deshojado (90 cepas deshojadas). El resto de las vides se marcaron como control.
- Albillo Real. Se eligieron cuatro filas de 30 cepas cada una. Se marcaron dos filas para cada tratamiento (60 cepas deshojadas y 60 controles).

En las tres, la ejecución del deshojado se realizó después del envero. Se llevó a cabo de forma manual con la ayuda de tijeras para podar. Consistió en la eliminación de las primeras ocho hojas basales de todos los sarmientos de la cepa, incluidos los nietos como se muestra en la Figura 17.

Tabla 5. Resumen de tratamientos por variedad y año. D: deshojado

	Moscatel de Alejandría (A)		Moscatel de Grano Menudo (MEN)		Albillo “La Mina” (MIN)	
2015	A	AD	MEN	MEN D	MIN	MIN D
2016	A	AD	MEN	MEN D	MIN	MIN D



Figura 17. Deshojado manual de 8 hojas en envero.

VI.2.4. Control de fenología, maduración y vendimia

En cada uno de los viñedos descritos en el apartado VI.2.1, una vez seleccionadas las variedades para el estudio, se procedió al marcaje de las cepas sobre las que iba a realizarse el seguimiento de la fenología, maduración y vendimia. Las cepas fueron marcadas con cinta adhesiva de color. En cada parcela se seleccionó una zona de muestreo donde las vides quedasen distribuidas de forma homogénea y proporcional a la extensión del viñedo evitando las zonas cercanas a caminos.

Estados fenológicos

El control de la fenología se realizó siguiendo el método propuesto por Baillod y Baggiolini (1993) donde se definen 10 estados fenológicos desde la brotación hasta el envero (Figura 18). Entre los años 2012-2016 se llevaron a cabo visitas semanales a las parcelas experimentales entre los meses de marzo y junio coincidiendo con las etapas que van desde la brotación hasta el cuajado para controlar los estados de desarrollo de las yemas de todas las variedades de estudio correspondientes en cada año. El cambio de un

estado fisiológico a otro en una variedad dada se estableció cuando al menos el 50% de las vides habían alcanzado la nueva fase.

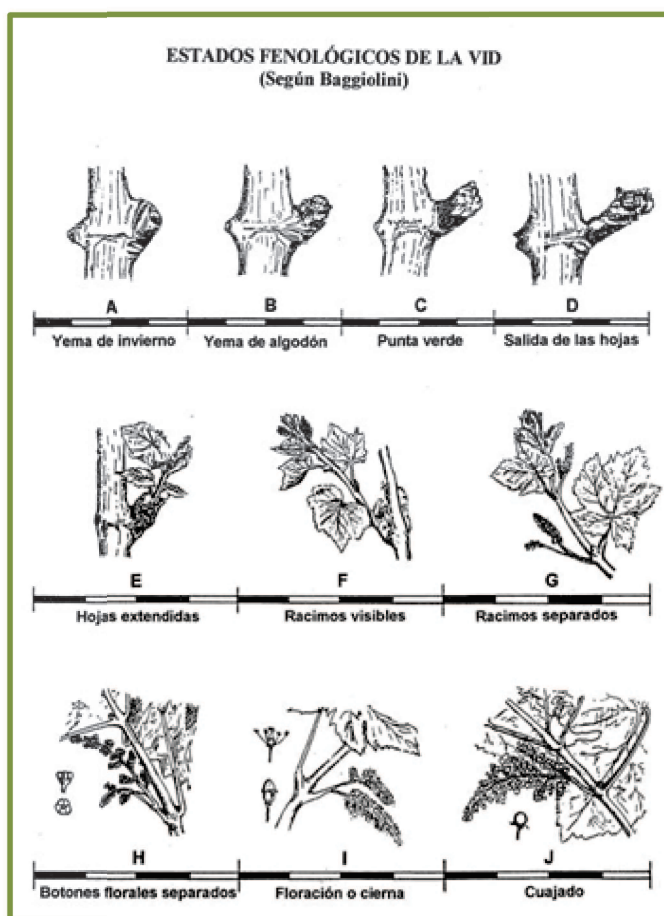


Figura 18. Estados fenológicos según Baillod y Baggiolini (Hidalgo 1999).

Control de la maduración

Con la llegada del invierno, para evitar que las uvas fueran dañadas por animales a lo largo de la maduración, se procedió a cubrir las cepas seleccionadas con mallas de protección.

Desde el invierno hasta la fecha de vendimia se realizó una toma de muestras semanal para cada variedad con el fin de conocer el estado de maduración de las uvas. La forma de realizar el muestreo se determinó siguiendo el método descrito por (Ribéreau-Gayon et al. 2003a).

- Los muestreos se realizaron a primera hora de la mañana, una vez eliminado el rocío nocturno en caso de haberlo.
- Se evitaron cepas que presentaban aspecto poco saludable o excesivamente vigorosas.
- El número de racimos a muestrear en cada cepa fue elegido por la persona que realizaba el muestreo en base al número y tamaño de las cepas de la parcela tomándola de racimos a distintas distancias, orientaciones y alturas con respecto al tronco principal. También se tuvieron en cuenta los racimos expuestos al sol y los sombreados por las hojas.

- Debido a que la maduración en el racimo no es homogénea, de cada uno de ellos se cogían entre tres y cinco bayas de los hombros, ápice terminal y zona media, empleando unas tijeras llevando la muestra a una bolsa de plástico previamente marcada con el nombre de la variedad y fecha de muestreo correspondiente. De cada variedad se recogía aproximadamente 1000 g de muestra.
- Las muestras embolsadas eran llevadas rápidamente al laboratorio para ser procesadas y analizadas. Para el transporte y protección de las muestras se empleó una nevera portátil con bloques de hielo para conservar la temperatura y evitar la exposición al sol y el inicio de las fermentaciones.

Vendimia

Una vez determinada la fecha de vendimia, las uvas eran cosechadas de forma manual durante las primeras horas de la mañana. Se emplearon tijeras para cortar el racimo y cajas de vendimia de plástico de 50 litros de capacidad que suponen aproximadamente 22-25 kg de uva para el transporte. Las cajas fueron marcadas según la variedad y/o el tratamiento realizados para ser trasladadas a la bodega experimental de “El Encín” donde se guardaron en cámaras frigoríficas para disminuir su temperatura a 10 °C antes de los procesos de vinificación.

VI.3. BODEGA EXPERIMENTAL

VI.3.1. Material biológico y productos enológicos

En este apartado se clasifican el material biológico y productos enológicos con los que se trabaja en la bodega experimental, así como su procedencia, tratamientos y procesos para los que son empleados.

- ✓ Uvas de distintas variedades blancas (punto VI.2.1) recolectadas manualmente de diferentes zonas de la D.O. “Vinos de Madrid” que serán empleadas para la extracción del mosto correspondiente.
- ✓ Mostos procedentes de las uvas procesadas en bodega que se emplea para las distintas fermentaciones.
- ✓ Vinos resultantes de los métodos de elaboración empleados.
- ✓ Levaduras empleadas para las vinificaciones y crianza sobre lías:
 - Cepas de levaduras autóctonas *Saccharomyces cerevisiae* de la D.O. “Vinos de Madrid” seleccionadas por el Laboratorio de Microbiología Enológica del IMIDRA: CLI 271 y CLI 889. Ambas se encuentran depositadas en la Colección Española de Cultivos Tipo (CETC) con los códigos de referencia 13144 y 13145 respectivamente.
 - Levaduras comerciales secas activas (LSA Vario y Diana, ambas de la firma Agrovín).
 - Lías: Super Bouquet MN.

- ✓ Ácido tartárico.
- ✓ Enzimas pectolíticas Enozym AROME, nutrientes Actimax plus+ y Actimax Bio.
- ✓ Redoxtanín B empleado como fuente de anhídrido sulfuroso y protector frente a la oxidación en mosto.
- ✓ BCP XXI: empleado como coadyuvante en la fermentación alcohólica.
- ✓ Glicerina y ácido sulfúrico para evitar entrada de oxígeno en las válvulas Müller.

VI.3.2. Aparatos e instrumentos

A continuación se detalla el material empleado en bodega durante todo el proceso de vinificación, desde la recepción de la uva hasta el almacenamiento del vino embotellado.

- ✓ Báscula para el pesado de las cajas de vendimia.
- ✓ Granatario de precisión para el pesado de productos.
- ✓ Mesa de selección manual.
- ✓ Despalilladora estrujadora y prensa manual (Figura 19).
- ✓ Bazuqueador de acero inoxidable para homogeneizar.
- ✓ Depósitos de acero inoxidable siempre llenos y de tapa con rosca para maceración, desfangado y fermentaciones (5L, 12L, 15L, 50L, 100L y 200L de capacidad). Frascos vidrio de 5L de capacidad en los que se realiza la crianza sobre lías (Figura 20).
- ✓ Bañeras de plástico para su empleo a modo de baño maría con placa de acero inoxidable para intercambio de calor (Figura 21).
- ✓ Baño maría con control de temperatura digital para regular la temperatura de aclimatación en la hidratación y activación de la levadura seca activa.
- ✓ Equipo de frío Revinsa Mini de 13000 fr/hr con sonda de temperatura para el control de la temperatura de fermentación en los depósitos (Figura 22).
- ✓ Sistema de aire comprimido para mantenimiento de las cámaras neumáticas en las tapas de los siempre llenos.
- ✓ Sistema de nitrógeno para relleno de espacio de cabeza en depósitos convencionales.
- ✓ Bomba peristáltica para la realización de trasiegos.
- ✓ Cámaras frigoríficas empleadas en el enfriamiento de uvas, mosto y depósitos fermentados.
- ✓ Densímetro y termómetro para el control y seguimiento de la densidad y temperatura de los mostos durante la fermentación.
- ✓ Probetas graduadas y vasos de precipitados de plástico.
- ✓ Válvulas de Müller para evitar la entrada de oxígeno al depósito y permitir la salida de dióxido de carbono en fermentación.
- ✓ Llenadora semiautomática Enolmatic con filtro de cartucho (Figura 23).
- ✓ Taponadora semiautomática P45 (Figura 24).

- ✓ Botellas de vidrio de 750 mL y tapones de corcho.



Figura 19. Material para el despalillado, estrujado y prensado de la vendimia.



Figura 20. Depósitos de 5L, 12L, 15L, 50L, 100L, 200L de acero inoxidable para macerar, desfangar y fermentar.

Frasco de 5L de capacidad para la crianza sobre lías.

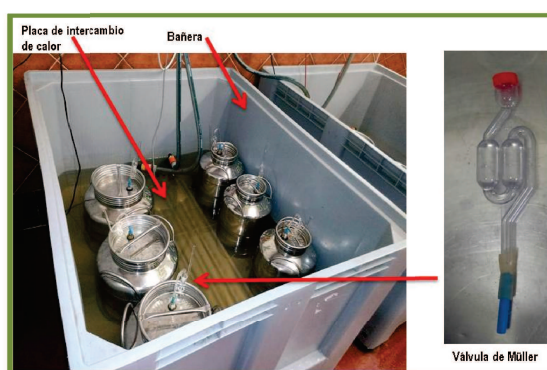


Figura 21. Depósitos fermentando en bañeras.

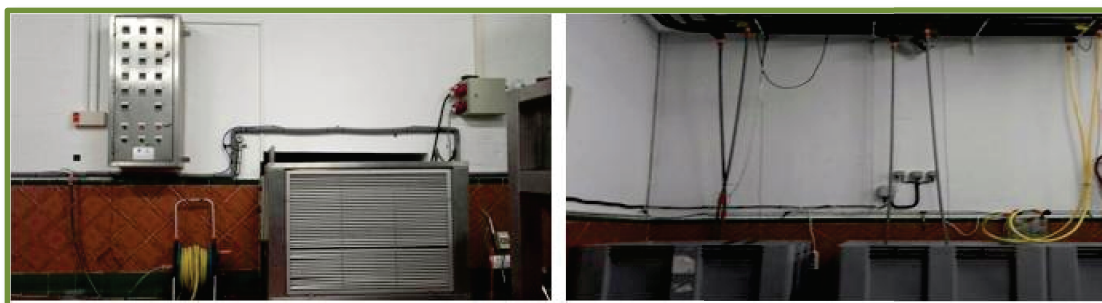


Figura 22. Equipo de frío y sonda de temperatura para el control de la fermentación.



Figura 23. Cámara frigorífica con sistema de nitrógeno en depósitos convencionales de tapa de rosca y sistema de aire comprimido en las tapas de siempre llenos



Figura 24. Taponadora y llenadora semiautomáticas.

VI.3.3. Metodología para las vinificaciones

Tras la recepción, durante el control de vendimia, la uva era pesada y en los casos necesarios, antes de comenzar con los proceso de vinificación, los racimos pasaban por una mesa de selección para eliminar aquellos que no se encontraran en buenas condiciones sanitarias.

Las vinificaciones se realizaron siempre por triplicado en todas las campañas y en los distintos tratamientos y variables de estudio. El objetivo era conocer el efecto de las distintas técnicas sobre el perfil aromático y sensorial, así como características físico-químicas de las vinificaciones resultantes de las variedades de estudio en cada caso: Malvasía Aromática, Moscatel de Grano Menudo, Moscatel de Alejandría y Albillo Real de las Fincas: La Mina, Navaredonda, Lancha de la Osa y Camacha.

A continuación se describen las técnicas de elaboración empleadas:

VI.3.3.1. Elaboración convencional

Durante la primera jornada, las uvas eran estrujadas y prensadas. En la fase de estrujado, se hizo pasar la uva a través de dos rodillos de caucho alimentario de una estrujadora con perfiles de hoja de roble. A continuación, la pasta estrujada fue incorporada a la prensa manual intercalando varios periodos de descompresión para favorecer los canales de drenaje en la masa de vendimia por los que fluye el mosto. Una vez conseguida la correcta separación del mosto de las partes sólidas se procedía a la homogeneización en un depósito de acero inoxidable. Al mosto se le añadió anhídrido sulfuroso (5g/hl) y enzimas pectolíticas (1g/hl). Posteriormente se realizó un desfangado estático en una cámara frigorífica donde permaneció entre 12-18 horas, según las muestras, a una temperatura de 10 °C.

En la segunda jornada, transcurrido el periodo de decantación, el mosto era trasegado a otro depósito para obtener un mosto de partida limpio y homogéneo. Se tomaba una muestra para el análisis de aromas y para determinar el °Brix, grado alcohólico probable, pH y acidez titulable comprobando la adecuación del nivel de azúcares de partida para la fermentación y realizar las correcciones necesarias con ácido tartárico hasta obtener un nivel de acidez apropiado para el ensayo (en torno a 3,2 pH y 6 g/L de ácido tartárico). El mosto ya corregido era trasegado y encubado repartiendo el volumen por igual en tres depósitos de acero inoxidable. Los depósitos fueron introducidos en bañeras de plástico llenas de agua refrigerada (a modo de baño maría) mediante una placa de acero inoxidable como intercambiador de calor conectada a un equipo de frío, y controlada con una sonda de temperatura. Por último, se medía la densidad del mosto de partida y se procedía a la adición del inóculo de LSA a razón de 30 g de levadura seca/100 L de mosto, hidratándola según las especificaciones del fabricante. La temperatura de las fermentaciones se estableció en torno a 16 °C. Los depósitos se tapaban y en sus tapas se acoplaba una válvula de Müller de plástico (Ciani & Rosini 1987) rellena de glicerina para evitar la entrada de O₂.

Durante el tiempo que duraba la fermentación, se realizaba un control diario de temperatura, densidad y sensorial para seguir la evolución de cada depósito. Una vez arrancaban las fermentaciones se les añadía BCP XXI como coadyuvante en la fermentación (40 g/hl) y a la mitad (aproximadamente 1,040 g/mL de densidad), se le añadía un activador de la fermentación (Actimax plus+ ó Actimax Natura, de la

casa comercial Agrovin, Ciudad Real, España). La fermentación alcohólica se daba por terminada cuando la densidad se encontraba por debajo de 0,995 g/mL de densidad y se comprobaba mediante un análisis de azúcares reductores que el mosto había llegado a sequedad. Se tomaba una muestra de fin de fermentación para el análisis de aromas y otros parámetros físico-químicos. Los vinos se trasegaron a otros depósitos y se llevaron a una cámara fría para su conservación dejándolos decantar por gravedad. Cada uno de ellos fue sellado con su tapa y conectado a un sistema de mangueras de plástico a su vez vinculadas a una bala para la adición de una mezcla de nitrógeno y CO₂ (80:20) de forma periódica durante su conservación.

Tras tres trasiegos en los siguientes meses, se procedió a embotellar el vino mediante una llenadora semiautomática Enolmatic con filtro de cartucho previo o bien filtrando con un sistema de cartuchos de diferente micraje Opticap de Millipore y embotellado manual posterior. Finalmente fueron tapadas con corcho natural, etiquetadas y almacenadas en cámara refrigerada entre 8 y 11 °C en posición horizontal hasta el posterior análisis sensorial y fisicoquímico del vino. Tanto al terminar la fermentación alcohólica, como antes de proceder al embotellado se añadió anhídrido sulfuroso a los vinos.

A lo largo del periodo de envejecimiento en botella se tomaron muestras a los 6 meses para el estudio de la composición aromática. Todas las muestras recogidas durante el proceso eran congeladas hasta el momento del análisis.

VI.3.3.2. Maceración prefermentativa en frío

La uva fue despalillada y estrujada. Tras la adición de anhídrido sulfuroso en forma de Redoxtanin B (10 g/hl) y enzimas pectolíticas (1 g/hl) la pasta se homogeneizó y dejó macerar en frío en un depósito de acero inoxidable. Durante las distintas campañas los parámetros de maceración fueron diferentes:

- ✓ Contacto entre los hollejos y mosto durante 18 horas (M18) en cámara frigorífica a 10 °C de temperatura (ensayo 1)
- ✓ Contacto entre hollejos y mosto durante 6 horas (M6) a 10 °C en una bañera con agua fría en recirculación conectada a un depósito de frío y sonda para el control de temperatura del agua y la pasta de maceración (ensayo 2)

Tras el periodo de maceración la pasta se prensó de forma manual y se dejó desfanganar una noche. El resto de la elaboración fue igual a la convencional.

Todos los vinos fueron elaborados con maceración prefermentativa en frío a excepción de los vinos de Malvasía Aromática elaborados por el método convencional empleados como control en los ensayos de maceración.

De los mostos procesados mediante esta técnica, se tomó muestra para análisis de precursores aromáticos antes y después de macerar. También fueron congelados hasta el momento del análisis.

VI.3.4. Empleo de levaduras autóctonas

Se llevaron a cabo microvinificaciones en el laboratorio con levaduras de *Saccharomyces cerevisiae*, autóctonas de la Denominación de Origen "Vinos de Madrid", para conocer su efecto sobre la calidad de los vinos elaborados y evaluar la evolución de compuestos generados en el proceso de vinificación (las microvinificaciones en laboratorio se describen en el apartado VI.4.4 de materiales y métodos)

Se ensayaron las cepas CLI 271 y CLI 889 frente a la levadura comercial Vario Agrovín (LSA). Las cepas fueron seleccionadas por el laboratorio de Microbiología Enológica del Departamento Agroalimentario del IMIDRA y fueron elegidas por sus adecuadas condiciones de implantación, fermentación y elaboración de vinos de correcta calidad enológica (Balboa-Lagunero et al. 2013; Cordero-Bueso et al. 2016). Las fermentaciones se realizaron sobre el mosto macerado de la variedad Malvasía Aromática (mosto previamente macerado en frío durante 18h). El mosto fue dividido en 7 depósitos. Tres fueron inoculados con la levadura CLI 271, otros tres con la cepa CLI 889 y el último con la levadura comercial Vario. El pie de cuba de las cepas autóctonas fue iniciado en el laboratorio 48 horas antes en mosto de uva blanca a 28 °C, se le fue añadiendo mosto progresivamente hasta conseguir un pie de cuba con el volumen necesario y una densidad celular $>10^6$ unidades formadoras de colonias/mL. La temperatura del pie de cuba se fue disminuyendo gradualmente antes de su inoculación para evitar un choque térmico. De forma paralela se realizó una siembra con la levadura comercial Vario como se ha descrito en el punto anterior (adición del pie de cuba a razón 30 g de levadura seca/100 L de mosto, hidratándola según las especificaciones del fabricante). El resto del proceso se realizó como se describe en el apartado VI.3.3.1.

VI.3.5. Crianza sobre lías

Para la realización de este estudio se emplearon los vinos de la variedad Malvasía Aromática (MVS) obtenidos en la campaña del 2012 mediante maceración pelicular prefermentativa durante 18h (M18) y elaboración convencional (C) junto con los vinos de la campaña 2013 elaborados con las cepas de levaduras CLI 271, CLI 889 y LSA.

Tras la fermentación alcohólica y una vez realizado el procedimiento pertinente previo al embotellado descrito en el apartado VI.3.3.1, la mitad del volumen de los vinos procedentes de la elaboración convencional (C) y los elaborados con maceración prefermentativa (M18) así como los elaborados con las distintas cepas de levaduras (CLI 271, CLI 889 y LSA) (Tabla 6) fueron sometidos a un tratamiento de crianza sobre lías. Los vinos fueron trasegados de los depósitos a frascos vidrio con tapón de rosca de 5 L de capacidad y posterior adición del producto enológico Súper Bouquet MN. La dosis empleada fue 30 g/hl.

El tratamiento se llevó a cabo a una temperatura de entre 8 y 11 °C con una duración de 5 meses, realizándose dos batonnages semanales de 10 minutos de duración por botella con ayuda de un agitador magnético. Una vez finalizado el tratamiento, los vinos fueron trasegados para eliminar lías, clarificados y embotellados del mismo modo que los vinos sin tratamiento de lías. Se tomaron muestras para los análisis pertinentes al finalizar el proceso.

Tabla 6. Resumen de los vinos elaborados de la variedad Malvasía Aromática con y sin tratamiento de lías en la campaña 2012 y 2013; M18: maceración prefermentativa durante 18h; C: elaboración convencional; L: crianza sobre lías; NL: sin crianza sobre lías.

MVS 2012				MVS 2013					
C		M18		CLI 271		CLI 889		LSA	
L	NL	L	NL	L	NL	L	NL	L	NL

VI.4. EXPERIMENTACIÓN EN LABORATORIO

VI.4.1. Reactivos

VI.4.1.1. Patrones cromatográficos

La Tabla 7 contiene la relación de compuestos volátiles clasificados por familias químicas empleados en la realización de rectas de calibrado para la identificación y cuantificación de la fracción volátil de los vinos analizados mediante cromatografía de gases y espectrometría de masas (GC-FID y GC-MS). Además, la Tabla 8 recoge los patrones internos utilizados para el cálculo de la señal cromatográfica de los compuestos estudiados y la técnica analítica para la que se han empleado. En ambas tablas se especifican el proveedor, pureza y el número de registro CAS de cada uno de ellos.

Tabla 7. Descripción de patrones utilizados para los análisis de compuestos volátiles mediante GC-FID y GC-MS.

COMPUESTO	PUREZA (%)	CAS	PROVEEDOR
Ácidos			
Ácido butírico	>98%	107-92-6	Merck
Ácido decanoico	>98%	334-48-5	Merck
Ácido hexanoico	99%	142-62-1	Sigma-Aldrich
Ácido isobutírico	>98%	79-31-2	Merck
Ácido isovaleriano	>99%	503-74-2	Merck
Ácido octanoico	99%	204-677-5	Merck
Alcoholes			
Alcohol bencílico	>99%	100-51-6	Merck
Alcohol isoamílico	>99%	123-51-3	Fluka
1-Butanol	>99%	71-36-3	Sigma-Aldrich
cis-3-Hexen-1-ol	>98%	928-96-1	Merck
β -Feniletanol	99%	60-12-8	Sigma-Aldrich
Isobutanol	>98%	78-83-1	Merck
1-Hexanol	>98%	111-27-3	Merck
Metionol	98%	505-10-2	Sigma-Aldrich
Aldehídos y cetonas			
Benzaldehído	99%	100-52-7	Merck
Diacetilo	97%	431-03-8	Merck
Acetoina	>98%	513-86-0	Merck
Ésteres			
Butirato de etilo	>98%	105-54-4	Merck
Hexanoato de etilo	>99%	123-66-0	Fluka
3-Hidroxibutirato de etilo	98%	5405-41-4	Sigma-Aldrich
Isobutirato de etilo	>98%	97-62-1	Merck
Isovalerato de etilo	98%	108-64-5	Sigma-Aldrich
Lactato de etilo	>98%	94-64-3	Merck
Octanoato de etilo	>98%	106-32-1	Merck
Acetato de isoamilo	>99%	123-92-2	Sigma-Aldrich
Acetato de 2-feniletilo	97%	103-45-73	Sigma-Aldrich
Acetato de hexilo	>98%	142-92-7	Merck
Sucinato de dietilo	99%	123-25-1	Merck
Lactonas			
γ -Butirolactona	>99%	96-48-0	Fluka
C13-norisoprenoides			
β -Damascenona	90%	23696-85-7	-
Terpenos			
β -Citronelol	98%	106-22-9	Merck
Geraniol	98%	106-24-1	Fluka
Limoneno	99%	5989-27-5	Sigma-Aldrich
Linalol	97%	78-70-6	Merck
β -Mirceno	95%	123-35-3	Sigma-Aldrich
α -Terpineno	95%	99-86-5	Sigma-Aldrich
γ -Terpineno	>98%	99-85-4	Sigma-Aldrich
α -Terpineol	98%	98-55-5	Merck

Tabla 8. Relación de patrones internos con sus correspondientes especificaciones y técnica para la que han sido empleados.

PATRÓN INTERNO	PUREZA (%)	CAS	PROVEEDOR	TÉCNICA DE ANÁLISIS
2-Butanol	99%	78-92-2	Sigma-Aldrich	GC-FID
4-Methyl-2-pentanol	>97%	108-11-2	Merck	GC-FID
4-hydroxi-4-methyl-2-pentanone	99%	123-42-2	Sigma-Aldrich	GC-FID
2-Octanol	>97%	123-96-6	Sigma-Aldrich	GC-FID
4-Octanol	>97%	589-62-8	Sigma-Aldrich	HS-SPME-CG-MS
4-Nonanol	>98%	5932-79-6	Tokyo Chemical Industry	GC-MS para precursores glicosilados

VI.4.1.2. Disolventes, sales y otros reactivos

A continuación se muestra la relación de disolventes, sales inorgánicas y otros reactivos empleados en el laboratorio indicando la calidad de los mismos, pureza y distribuidor:

- ✓ Etanol (HPLC-gradiente), PAI-ACS (Panreac).
- ✓ Metanol (HPLC-gradiente), PAI-ACS (Panreac).
- ✓ Diclorometano (HPLC-gradiente), PAI-ACS (Panreac).
- ✓ Pentano (HPLC-gradiente), PAI-ACS (Panreac).
- ✓ Acetona (para limpieza) (Industrias Químicas Cuadrado).
- ✓ Cloruro sódico (NaCl), ACS-ISO (Panreac).
- ✓ Sulfato amónico ($[(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4]$), ACS-ISO (Panreac).
- ✓ Di-Sodio Hidrogenofosfato anhidro Na_2HPO_4 , 99% (Sigma-Aldrich).
- ✓ Hidroxido de sodio (NaOH), ACS-ISO (Prolabo).
- ✓ Ácido tartárico ($\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_6$), 95,5 % (Panreac).
- ✓ Ácido cítrico ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$), ACS-ISO (Merck).
- ✓ Ácido clorhídrico (HCl), 37% PA-ACS-ISO (Panreac).
- ✓ Ácido sulfúrico (H_2SO_4), 96% PA-ISO (Panreac).
- ✓ Formaldehído (CH_2O), PA-ACS (Panreac).
- ✓ Reactivo de Fehling A (Panreac).
- ✓ Reactivo de Fehling B (Panreac).
- ✓ Yodo 0,05 N (I_2) ACS-ISO (Panreac).

El agua empleada para preparar las disoluciones era ultrapura, obtenida en el laboratorio mediante un sistema de purificación (Millipore). También se empleó agua destilada para limpieza.

Para el crecimiento de levaduras se empleó medio de cultivo YPD constituido por peptona al 2%, extracto de levadura al 1%, dextrosa al 2%, agar bacteriológico al 1,5% para preparar medio sólido en placas. Los reactivos fueron de la casa comercial Panreac.

VI.4.2. Material y métodos para el control de la maduración

Ya en el laboratorio, las uvas de cada variedad fueron pesadas y tratadas por separado. La mitad de la muestra era guardada y se almacenaba congelada para el análisis de aromas, el resto se empleaba en el control de maduración.

Se medía, por triplicado, el peso de 50 bayas (P_{50}) y el número de bayas contenidas en 100 gramos de uvas recogidas en un vaso de precipitados previamente tarado en un granatario de precisión de la marca Sartorius.

Por otro lado, se procedió a la extracción del mosto despallando manualmente las uvas y estrujándolas con ayuda de una “tomatera” (Figura 25) manual evitando romper las semillas. El mosto obtenido fue centrifugado con una centrífuga J-25 de Beckman Coulter durante 10 minutos a 8000 rpm para decantar las partículas sólidas.



Figura 25. Tomatera.

Al mosto extraído se le realizaron las siguientes determinaciones analíticas siguiendo los métodos oficiales propuestos por la OIV (OIV 2012):

- Grado Brix y Grado alcohólico probable (GAP): el grado Brix determinó mediante refractometría. Se utilizó un refractómetro digital PR-100 de Atago® con sensor de temperatura y ajuste previo del cero con agua destilada. El GAP se determinó con tablas de equivalencia.
- Acidez titulable y pH: se hizo una valoración potenciométrica con una disolución de NaOH 0,5M factorizada para la obtención de los valores de acidez titulable. Se empleó el titrador automático Crison modelo Compact Titrator (Crison Instruments, Barcelona). Los resultados de acidez titulable vienen expresados en g/L de ácido tartárico.
- Para poder establecer el momento óptimo de madurez tecnológica se determinó el Índice de Madurez Tecnológica (IMT) cuya fórmula se expone a continuación:

$$\text{IMT} = \text{Azúcares (g/L de mosto)} / \text{Acidez titulable (g/L en ácido tartárico)}$$
- Determinaciones de ácido málico, ácido tartárico y potasio (g/L): se realizaron mediante un método enzimático empleando un espectrofotómetro de doble haz Helios alpha (Thermo Fisher) para la lectura espectrofotométrica. La medida del ácido málico se basó en la reacción de oxidación del ácido L-málico a oxalacetato; para la determinación del tartárico se empleó la reacción del ácido tartárico con ácido vanádico para formar un compuesto que será medido a una longitud de onda; y la medición del potasio se basó en la formación de un precipitado estable al reaccionar los iones potasio con el tetrafenilborato (Tecnología Difusión Ibérica S.L, Gavà, Barcelona, España).

VI.4.3. Evolución del perfil aromático

VI.4.3.1. Materiales y métodos para análisis de precursores aromáticos

Para realizar un seguimiento de la evolución de la madurez aromática de las variedades de estudio, se llevó a cabo un análisis de precursores glicosilados del aroma a lo largo del periodo de maduración durante las vendimias 2012, 2013, 2014 y 2015. El análisis de precursores se realizó mediante dos métodos: hidrólisis enzimática y determinación por GC-MS e hidrólisis ácida y determinación por UV-VIS.

VI.4.3.1.1. Extracción y análisis de agliconas volátiles por GC-MS

Este estudio se realizó sólo en muestras de uvas y se llevó a cabo en cinco etapas: obtención de la muestra, extracción, hidrólisis, preparación del extracto, análisis GC-MS siguiendo el método de Schneider et al. (2004).

1. Obtención de la muestra

Se seleccionaron 500 g de uvas de cada muestra de maduración que fueron descongeladas a 4 °C durante la noche. A continuación, las bayas se despalillaron manualmente y fueron procesadas en una licuadora Moulinex AT7 evitando romper las semillas (7 segundos en posición 3). La pasta obtenida fue centrifugada (8000 tr/ min a 4 °C durante 40 minutos) y filtrada con un colador de lana de vidrio para separar las semillas y restos de hollejos que quedasen en suspensión. Una vez obtenida la muestra de mosto limpia se midieron en torno a 500 mililitros en una probeta y se envasaron en botes de plástico con tapón de rosca para ser congelados inmediatamente hasta la fase de extracción de la fracción glicosilada.

El mosto fue descongelado a 4 °C durante una noche y filtrado mediante el empleo de un embudo Buchner, Kitasato y papel de filtro sin cenizas. A continuación se realizó otra filtración empleando un filtro de membrana Whatman de nitrato de celulosa de 5 micras y 47 milímetros de diámetro con un sistema Millipore (Figura 26).

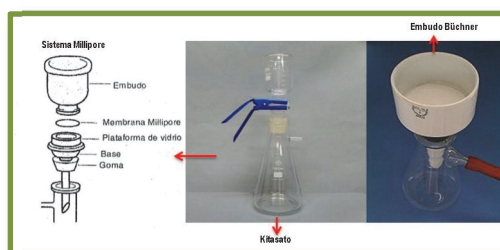


Figura 26. Filtración con embudo Büchner y sistema Millipore.

2. Extracción de los precursores glicosídicos

De la muestra de mosto filtrado se tomaron 300 mL en una probeta y se enrasaron hasta 900 mL con agua ultrapura obtenida mediante un sistema Millipore. La dilución se homogenizó y dividió en tres muestras de 300 mL por repetición.

Cada una de las repeticiones fue sometida a una extracción en fase sólida (SPE) con cartuchos C-18 (Lichrolut RP-18 de 40-63 µm, 500 mg 3 mL) mediante un equipo de extracción SPE AutoTrace Workstation (Caliper Life Sciences) (Figura 27) conectado a una bala de nitrógeno. El AutoTrace está provisto de seis capilares de absorción de disolvente y una línea de elución de residuos, seis bombas de impulsión de muestras, seis líneas de toma de muestras, seis pistones de elución para columnas SPE y una estación de recogida de disolvente y agua. También contiene una gradilla para los tubos de recogida del extracto. Antes de comenzar a utilizar el AutoTrace se presuriza con nitrógeno hasta al menos 2 bares y se colocaban las muestras en sus líneas de toma correspondientes.

A continuación se describen las etapas realizadas por el AutoTrace:

- a. Acondicionamiento.
 - Lavado con 5 mL de metanol.
 - Acondicionamiento de columna con 10 mL de metanol.
 - Lavado con 5 mL de agua destilada.
 - Acondicionamiento de columna con 10 mL de agua destilada.
- b. Extracción.
 - Paso de los 300 mL de muestra por el cartucho.
 - Lavado con 100 mL de agua MiliQ para recoger los restos de muestra que quedasen en el recipiente que la contenía.
 - Secado de la columna con nitrógeno durante 2 minutos.
 - Lavado de columna con 10 mL de pentano/diclorometano, 2/1 vol/vol.
 - Enjuagado de la columna con 10 mL de pentano/diclorometano (dos veces).
 - Secado de columna con nitrógeno durante 2 minutos.
 - Lavado de columna con 5 mL de metanol.
 - Recogida del extracto en un tubo de tapón de rosca usando metanol como eluyente (8 mL de extracto por repetición).
- c. Lavado de las líneas de toma de muestra y las jeringas con 850 mL de agua MiliQ y 300 mL de etanol.



Figura 27. AutoTrace SPE.

3. Hidrólisis enzimática

La fracción glicosilada en metanol fue recogida en tubos de tapón de rosca de 10 mL de capacidad y concentrada en un baño maría Turbo Vap (Figura 28) (Caliper, LifeSciences) a 45 °C durante 60 minutos bajo una corriente de nitrógeno que comienza con 2 bares y va aumentando progresivamente hasta un

máximo de 15 bares con el fin de que el nitrógeno penetre hasta el fondo de los tubos asegurándonos de la total evaporación del metanol.

Paralelamente se hacía el preparado enzimático con 70 mg de enzima (Rapidase® AR2000, DSM, Delft, Países Bajos) disuelta en 1 mL de tampón fosfato/ citrato (0,2 M/0,1 M a pH 5).

El extracto seco con la fracción de precursores era disuelto en 1 mL del buffer fosfato/citrato y resuspendido con un vortex asegurándonos de disolver bien los residuos de las paredes del tubo. A cada tubo se le añadía 100 µL de la mezcla enzimática y se homogeneizaba de nuevo con un vortex. Los tubos eran cubiertos con tapones de rosca bien ajustados y colocados en una gradilla con agua hasta cubrir la mezcla. Por último se introducían en un horno a 45 °C durante una noche.

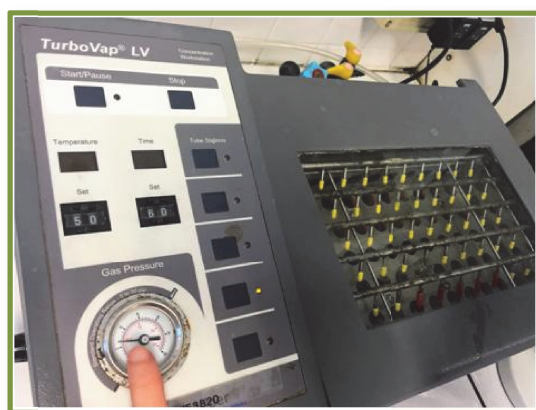


Figura 28. Turbo vap.

4. Preparación del extracto

Tras la hidrólisis, una vez a temperatura ambiente, se procedió a la extracción de la fracción volátil liberada mediante cinco extracciones con azeótropo. Cada una se realizaba añadiendo 2 mL de pentano/diclorometano seguido de 3 agitaciones rápidas y vigorosas con el vortex. El sobrenadante se recogía con una pipeta Pasteur y se iba almacenando en un tubo de fondo cónico con tapón de rosca hasta realizar la última extracción. El extracto orgánico de cada muestra se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se filtró con ayuda de un embudo y lana de vidrio para evitar el paso de la sal sobre un matraz de destilación. A continuación se añadía 5 µg de 4-nonanol que se empleaba como patrón interno y dos o tres fragmentos de teflón para controlar la ebullición. El extracto era concentrado en un baño maría con 50% de etanol/agua por rectificación parcial a 35 °C en columna Dufton (Société Legallais, Montpellier) (Figura 29). Por último, el extracto era almacenado en viales de rosca de 1,5 mL de capacidad (Agilent Technologies) que fueron conservados a -20 °C hasta el momento del análisis por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS)



Figura 29. Baño maría con columnas Dufton sobre matraz de destilación.

5. Análisis mediante GC-MS

Los análisis se realizaron por cromatografía de gases espectrometría de masas (GC-MS) empleando un Agilent cromatógrafo de gases 6890 equipado de un autosampler CombiPal AOC 5000 acoplado a un espectrómetro de masas 5873 A equipado con un filtro cuadrupolo. Las condiciones cromatográficas se describen en la Figura 30.

Los compuestos volátiles fueron identificados empleando el software de Hewlett Packard 5989 ChemStation B.05.02 EM para la comparación de los espectros de masas y bases de datos (Nist 2008 y Wiley). Además, los compuestos identificados fueron confirmados mediante la comparación de los índices de Kovats calculados a partir de un patrón de alcanos analizados con el mismo método cromatográfico y los índices de retención para la columna DB-WaxTR encontrados en la bibliografía. Se realizó un análisis semi-cuantitativo asumiendo factores de respuesta iguales a 1. Las concentraciones fueron expresadas en g/L de equivalentes de 4-nonanol.

GC		
Horno	Temperatura inicial (°C)	60
	Tiempo (min)	3
	Rampa	
	Velocidad °C/min	3
	Temperatura °C	245
	Tiempo min	10
Columna	Tipo	DB-WaxTR
	Características	30*0,25*0,25
	Tasa de flujo (ml/min)	1,2
	Gas vector	Helio
Inyector	Modo	Splitless
	Temperatura (°C)	245
	Presión (kPa)	3
	Flujo de Split (ml/min)	10
	Tiempo de splitless (min)	0,5
MS		
	Modo	Scan
	Retraso del disolvente (min)	3
	Masa	29-350



Figura 30. Condiciones cromatográficas y GC-MS para en el análisis de precursores glicosidicos en uvas.

VI.4.3.1.2. Determinación de precursores por UV-Vis

El otro método empleado en el estudio de precursores glicosilados consistió en la determinación del parámetro Índice de Potencial Aromático Varietal (IPAv) a partir del kit de reactivos IPAv de la firma Teknokroma, basado en los métodos desarrollados por Salinas et al. (2012) y Serrano de la Hoz et al. (2014b).

El método está basado en una extracción en fase sólida (SPE) seguida de hidrólisis ácida para la liberación de los precursores y la glucosa G-G que es cuantificada mediante espectrofotometría (UV-VIS).

La preparación de la muestra, y por tanto la extracción de los precursores, se realizó de forma diferente para cada matriz ya que este análisis se realizó en muestras de uvas a lo largo de la maduración y en mostos antes y después de ser macerados.

A continuación se describen los materiales y métodos empleados en el análisis:

1. Métodos de extracción empleados para las distintas matrices

Preparación y extracción de precursores en uvas. De la muestra congelada de uvas, se tomaron 50 g, se despalillaron y procesaron durante 30 segundos en un homogeneizador Stomacher® 400 Circulator (Seward) junto con una disolución etanol/agua al 50% (v/v) (sin romper las pepitas). La mezcla se dejó macerar durante 2 horas al baño maría a 25 °C en un frasco de vidrio de 100 mL de capacidad con tapón de rosca. Terminada la maceración, la muestra se filtró con un colador de acero inoxidable y se midió el volumen obtenido con una probeta. Por último, se centrifugó durante 10 min a 4000 rpm y se tomó el extracto para realizar la dilución correspondiente según el protocolo.

Preparación y extracción de precursores en mosto. Las muestras de mosto fueron directamente diluidas siguiendo el protocolo del kit puesto que la extracción de los precursores del hollejo ya se había realizado durante los procesos de vinificación en bodega descritos en el apartado VI.3.3 relativo a los métodos de elaboración.

El resto de los pasos del análisis fueron comunes para todas las muestras y se realizaron siguiendo el protocolo del kit:

2. Extracción en fase sólida (SPE)

La SPE se realizó empleando cartuchos de extracción y una cámara de vacío Manifold VacElut 20 (Agilent Technologies) acoplado a una bomba de membrana de vacío (Millipore) (Figura 31).



Figura 31. Sistema de vacío Manifold y cartuchos para SPE.

3. Hidrólisis ácida

La hidrólisis ácida así como todas las reacciones y reactivos necesarios para la separación y liberación de los precursores glicosídicos y la glucosa G-G se llevó a cabo con el kit de reactivos de Teknokroma (Figura 32a).

4. Medida espectrofotométrica

La glucosa G-G liberada tras la hidrólisis es determinada mediante UV-VIS empleando cubetas de cuarzo de 2 mm de espesor y un espectrofotómetro de doble haz Helios alpha (Thermo Fisher) (Figura 32b). La absorbancia se mide a 480 nm.

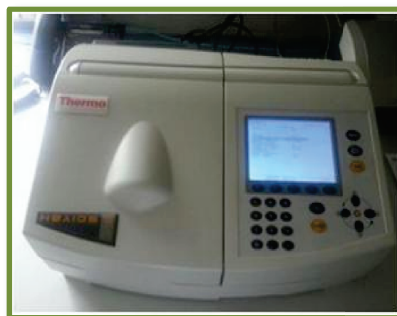


Figura 32 .a) Kit de reactivos Teknokroma. **b)** Espectrofotómetro UV-Vis.

VI.4.3.2. Análisis de la fracción libre del aroma

El análisis de la fracción volátil del aroma se realizó con muestras de vino procedente de distintos periodos a lo largo de su evolución: muestras de vino a mitad de fermentación, al finalizar la fermentación y a los seis y veinticuatro meses de envejecimiento en botella. Para ello se emplearon dos técnicas de extracción y análisis: HS-SPME/GC-MS y GC-FID.

VI.4.3.2.1. HS-SPME/GC-MS

El estudio de los compuestos volátiles varietales de los vinos se realizó mediante Cromatografía de Gases Espectrometría de Masas (GC-MS) siguiendo el método basado en Yuan & Qian (2016). Consiste en una microextracción en fase sólida con análisis del espacio de cabeza (HS-SPME) empleando una fibra para la extracción.

Se emplearon viales para cromatografía de 20 mL (Agilent Technologies) donde se diluyeron 2 mL de la muestra de vino con 8 mL de una solución de ácido cítrico (0,5 g/L ácido cítrico, pH 3, saturada con cloruro sódico) y 20 μ L de 4-octanol (100 μ g/L) que fue empleado como patrón interno. Se introdujo un imán de agitación y los viales se cerraron herméticamente con tapón de rosca y septum de teflón/silicona. La muestra era incubada en un sistema CombiPal de CTCAnalytics AG con agitación magnética para facilitar la acumulación de volátiles en el espacio en cabeza del vial que quedan retenidos en una fibra 50/30 μ m DVB/CAR/PDMS de 2cm de longitud (Sigma Aldrich) (Xu et al. 2007). La desorción de los compuestos volátiles se llevó a cabo en el inyector del cromatógrafo de gases (6890N de Agilent Technologies). Tras la inyección la fibra se lavó tres veces con etanol 100% para evitar contaminaciones. Para la detección de los compuestos volátiles se utilizó un espectrómetro de masas 5973N de Agilent. El patrón de fragmentación del espectro de masas se obtuvo empleando 70 eV como voltaje de ionización y una corriente de ionización de 10 μ A (Yuan & Qian 2006; Pérez-Martín et al. 2015). En la Figura 33 se muestran las condiciones de extracción y análisis del método.

Los compuestos volátiles analizados se identificaron y cuantificaron usando rectas de calibrado (Anexo 2) a partir de patrones comerciales ($R^2 > 0,98$) (Tablas 7 y 8 relativas a patrones internos) diluidos en etanol y empleando la librería NIST del equipo analítico. Los cromatogramas se cuantificaron en modo SIM. Para el cálculo de los puntos, por triplicado, de las rectas de calibrado se utilizaron 20 μ L de 4-octanol (100 μ g/L) y se llevaron a cabo siguiendo el mismo método de análisis que se empleó para el estudio de la fracción volátil de las muestras de vino sustituyendo los 2 mL de la muestra por vino sintético (12% de etanol a pH 3,5). Para el control de los equipos, la obtención de las rectas de calibrado y análisis de los resultados se empleó el software de Agilent Technologies MSD ChemStation.

SPME		
	Tiempo de incubación (min)	10
	Tiempo de espacio en cabeza (min)	30
	Temperatura de incubación y espacio en cabeza (°C)	50
	Tiempo de desorción (min)	7
GC		
Horno	Temperatura inicial (°C)	40
	Tiempo (min)	4
	Rampa	
	Velocidad °C/min	4
	Temperatura °C	230
	Tiempo min	10
Columna	Tipo	DB-Wax
	Características	30*0,25*0,5
	Tasa de flujo (ml/min)	1,5
	Gas vector	Helio
Inyector	Modo	Splitless
	Temperatura (°C)	250
	Presión (kPa)	11,7
	Flujo de Split (ml/min)	20
	Tiempo de splitless (min)	4
MS		
	Modo	Scan
	Retraso del disolvente (min)	3
	Masa	29-350

Figura 33. Condiciones de extracción y análisis por GC-MS empleadas en el análisis de volátiles en vinos.

Este método se reprodujo en otro equipo GC-MS del mismo modelo pero sin autosampler para la incubación e inyección automática de las muestras por lo que el método sufrió ligeras modificaciones (Figura 34):

- El periodo de incubación y extracción se realizó en un baño de arena mediante un agitador magnético IKA RTC basic con sonda de temperatura y termostato digital. El tiempo de incubación fueron 10 min y la extracción en espacio de cabeza con la fibra duró 50 min. Durante todo el proceso la temperatura se mantuvo a 50 °C y la velocidad de agitación fueron 1000 rpm. La inyección en el cromatógrafo fue manual.
- La columna empleada fue una DB-WAX de J&W Scientific (Folsom, CA, USA) de 60 m x 0.32 mm y un espesor de la película de 0.5 µm.
- Condiciones del horno: temperatura inicial de 40 °C durante 3 minutos; rampa 5 °C/min hasta alcanzar 230 °C 15 minutos.



Figura 34. GC-MS con sistema CombiPal (Oregón State University) y GC-MS sin autosampler.

VI.4.3.2.2. GC-FID

El método seguido para llevar a cabo la extracción e identificación de los compuestos volátiles mayoritarios en el vino fue la descrita por Ortega et al. (2001). Se basa en una micro extracción en fase líquida y análisis mediante cromatografía de gases acoplado a un detector de ionización de llama (GC-FID) empleando diclorometano (DCM) como disolvente y varios estándar internos de referencia. Éstos fueron seleccionados y agrupados para cada conjunto de compuestos en función de su comportamiento durante la extracción.

En la preparación de la muestra se emplearon tubos de vidrio con fondo cónico a los que se les añadió 3,9 g de sulfato amónico, 6,3 mL de agua desionizada calidad mili-Q, 2,7 mL de la muestra (vino), 20 μ L de una solución de estándares internos (Tabla 8) y 250 μ L de DCM. Los tubos fueron cerrados herméticamente con tapón de rosca y septum de silicona para evitar pérdidas durante la extracción. Las muestras eran agitadas durante 90 min mediante un agitador de vaivén GFL 3018 a 250 rpm y centrifugadas a 2500 rpm 10 min. Con ayuda de una pipeta Pasteur se recogió la fase orgánica y se centrifugó en un tubo eppendorf de 1,5 mL para quitar los restos de precipitado que pueda ensuciar la muestra e interferir en el análisis. Tras la segunda centrifugación se tomaba al menos una muestra de 100 μ L de la fase orgánica con una jeringa de cromatografía y se almacenaba en un vial de 1,5 mL de capacidad con septum de silicona.

El análisis cromatográfico se realizó con un equipo GC Agilent 6850. Las condiciones cromatográficas quedan registradas en la Figura 35.

La identificación de los compuestos se hizo en base a los tiempos de retención obtenidos a partir de patrones comerciales (ver Tabla 7). Se realizaron diluciones de los estándares a distintas concentraciones en una solución de etanol al 12% y se llevó a cabo el mismo método descrito anteriormente para la realización de rectas de calibrado ($R^2 > 0,98$) (Anexo 3). De cada punto de la recta se realizaron extracciones y análisis por triplicado.

GC		
Horno	Temperatura inicial (°C)	40
	Tiempo (min)	5
	Rampa	
	Velocidad °C/min	3
	Temperatura °C	200
	Tiempo min	16,67
Columna	Tipo	DB-Wax
	Características	60*0,32*0,5
	Tasa de flujo (ml/min)	2
	Gas vector	Helio
Inyector	Modo	Splitless
	Temperatura (°C)	250
	Presión (kPa)	15,68
	Flujo de Split (ml/min)	60
	Tiempo de splitless (min)	0,75




Figura 35. Condiciones cromatográficas para el análisis de compuestos mayoritarios en vino mediante GC-FID.

VI.4.4. Materiales y métodos para las microvinificaciones en el laboratorio

Las microvinificaciones se llevaron a cabo en una sala termostatzada a 18 °C. Se emplearon mostos congelados de la campaña 2012 de la variedad Malvasía y cepas de levaduras de *Saccharomyces cerevisiae* (CLI 271 y CLI 889) aisladas y seleccionadas de bodegas de la D.O. “Vinos de Madrid” por el Laboratorio de Microbiología Enológica que se ensayaron frente a la levadura comercial seca activa Vario, de la marca Agrovín (LSA de cepas de *Saccharomyces*). La selección de las cepas se llevó a cabo por el método clásico de levaduras vínicas (Suárez Lepe & Leal 2003) siguiendo diferentes criterios de selección, entre ellos: correcta cinética fermentativa, acidez volátil baja, poder fermentativo elevado y ausencia de defectos olfativos.

Las vinificaciones se realizaron por duplicado en fermentadores de 1L de capacidad equipados con válvulas Müller (Ciani & Rosini 1987) y una sonda para el control de la temperatura. Las válvulas Müller iban rellenas de ácido sulfúrico para permitir la salida de CO₂ e impedir la entrada de O₂. Previamente, de cada cepa de levadura, se preparó un inóculo con 10⁶ células/mL crecidas a 28 °C durante 24 horas en medio YPD (extracto de levadura 1% (w/v), peptona de carne 1% (w/v), glucosa 2% (w/v) y agar 2% w/v). La temperatura del inóculo fue disminuyéndose progresivamente para evitar un choque térmico al ser sembradas. Los fermentadores ya inoculados se colocaron sobre una balanza de precisión conectada a un software que recogía la cinética fermentativa por pesada automática a intervalos de una hora. Cuando la producción de CO₂ se detuvo (peso constante), se dio por finalizada la fermentación y las muestras se retiraron y estabilizaron por frío (Anexo 4). Después fueron trasegadas y embotelladas. (Figura 36).

Los fermentadores y válvulas Müller fueron suministrados por la casa comercial Scharlab, S.L y las balanzas de precisión por Sartorius AG.



Figura 36. Sala termostatzada con balanzas de precisión y fermentadores de 1 L para microvinificaciones.

VI.4.5. Otros análisis

VI.4.5.1. Análisis de parámetros generales

Los mostos de partida fueron sometidos a una evaluación de varios parámetros: grado alcohólico probable (GAP), grado Brix, acidez titulable, pH, ácido tartárico y málico y potasio. Todos ellos descritos en el apartado VI.4.2 relativo a “control de la maduración”.

Al finalizar la fermentación alcohólica, además del pH, acidez titulable, ácidos tartárico y málico y potasio, se analizaron los siguientes parámetros en los vinos (también de acuerdo con los métodos oficiales descritos por la OIV (OIV 2012):

- Acidez volátil: se determina mediante una destilación del vino por arrastre de vapor, seguida de una valoración del destilado con NaOH 0,1M. Los resultados vienen expresados en g/L de ácido acético. Previamente se eliminó el anhídrido carbónico de las muestras de vino mediante agitación en un baño de ultrasonido Ultrasons-h.
- Grado alcohólico volumétrico: corresponde a los litros de alcohol (etanol, metanol, alcoholes superiores, etc.) contenidos en 100 L de vino medidos a una temperatura de 20 °C. Para su determinación se empleó el método oficial CEE 1990 por destilación y medida del grado mediante un densitómetro Mettler Toledo modelo Densito 30P (a 20 ± 1 °C). También se eliminó el CO₂ con baño de ultrasonidos.
- Azúcares reductores (g/L): se empleó un método apoyado en el Licor de Fehling, basado en la capacidad reductora de la glucosa y fructosa sobre las sales cúpricas. La calibración previa se realizó con cinco patrones de Glucosa de concentraciones crecientes de 1 a 5 g/L. Se empleó el titrador automático Crison modelo Compact Tritator y un electrodo de platino para medir el potencial de óxido reducción ambos procedentes de la casa comercial Crison Instruments.
- La medida del SO₂ libre y total se realizó mediante el método Ripper. Este método consiste en una valoración potenciométrica basada en una oxido-reducción con yodo como reactivo valorante en medio ácido. Las valoraciones potenciométricas utilizando un electrodo de doble

hilo de platino como indicador (Crison Instruments) se llevaron a cabo en el titrador antes citado.

VI.4.5.2. Análisis de nitrógeno fácilmente asimilable

La cantidad de nitrógeno fácilmente asimilable (NFA) en mostos y vinos se determinó siguiendo el método de Sørensen con modificaciones del Laboratorio de Enología de IMIDRA.

Para proceder a la determinación, primero se descongeló el mosto en un baño termostático a 20 °C y centrifugó a 10000 rpm durante 5 minutos. Se tomaron 50 ml de la muestra y se ajustó a pH 8 con NaOH 1N con ayuda de un valorador automático (Compact Titrator de Crison). La muestra fue diluida al 50% con agua calidad mili-Q y de nuevo ajustada a pH 8 con NaOH 0,1N o HCL diluido. Se tomó una alícuota de 50 ml, se añadieron 20 ml de formaldehído y se dejó en agitación durante 15 minutos. Por último se procedió a la valoración con NaOH 0,1N, de nuevo con ayuda del valorador automático. Todas las muestras se analizaron por duplicado.

El nitrógeno asimilable se determinó en función del volumen de NaOH gastado (mL) según la ecuación:

$$\text{Nitrógeno asimilable (mg/L)} = \text{mL NaOH gastados} \times 56$$

VI.5. ANÁLISIS SENSORIAL

El análisis organoléptico de los vinos se realizaba durante la primavera siguiente a las vinificaciones resultantes, generalmente a los seis meses del final de la fermentación. Se llevaba a cabo mediante un panel de cata formado por 8 jueces, de los cuales, la mitad eran expertos catadores con amplia experiencia y el resto consumidores habituales; se prefería así con el objetivo de combinar la opinión de los expertos con la de los consumidores para determinar el grado de percepción de las diferencias y decidir en qué dirección debían realizarse los cambios en los vinos para mejorar su aceptación. Los catadores habían sido previamente entrenados con muestras reales de distintos vinos blancos comerciales.

Las sesiones de análisis sensorial se realizaban al medio día en la sala de catas de la bodega en la Finca Experimental “El Encín”, perteneciente al IMIDRA. La sala de catas cumplía con la normativa ISO 8589:2010 y estaba provista de 12 puestos, cada uno de ellos con iluminación y grifo individual. Para la cata, se servían 50 mL de vino en copas que cumplían con la normativa ISO 3591-1977 a una temperatura en torno a 12 °C.

Se realizaron dos tipos de pruebas, descriptivas y discriminantes triangulares. En la prueba descriptiva se emplearon copas transparentes para realizar la cata en tres fases: visual, olfativa y gustativa. Los atributos a valorar en cada fase fueron previamente descritos. Se pidió a los catadores que evaluaran las características del vino a describir mediante una escala cuantitativa de 10 niveles de intensidad, donde 0 correspondía a la ausencia de percepción y 10 a la máxima intensidad del descriptor. Además, los jueces

debían realizar una clasificación hedónica estableciendo el orden de preferencia de las muestras presentadas. También podían realizar comentarios adicionales sobre las propiedades sensoriales de los vinos. Los resultados se interpretaron mediante la representación gráfica de las medias aritméticas de las puntuaciones de los 8 catadores.

Las pruebas discriminantes triangulares se realizaron en copas de cata opacas, con el objetivo de diferenciar los vinos presentados por sus características olfativas y gustativas. En cada prueba, se presentaba a cada juez tres muestras codificadas, dos eran iguales y la tercera era distinta. Las muestras se presentaron totalmente aleatorias según las distintas combinaciones posibles. El juez tenía que indicar obligatoriamente cuál era la muestra diferente y cuál la preferida en cada serie, además, debía justificar las razones de la decisión. Los resultados se procesaron según la normativa ISO 4120:2007 evaluando el número mínimo de respuestas correctas para establecer una diferencia a distintos niveles de significación.

Las fichas de cata empleadas para los dos tipos de pruebas se presentan en las Figuras 37 y 38. Ambas procedían del laboratorio de Enología del IMIDRA.

	No perceptible	Comienza percibirse		Débil		Moderado			Fuerte		Muy Fuerte
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
FASE VISUAL											
Intensidad de color											
Amarillo verdoso											
Amarillo paja											
Amarillo dorado											
Vivacidad/brillo											
FASE OLFATIVA											
Intensidad aromática global											
Intensidad de aroma floral											
Intensidad de aroma frutal											
Intensidad del aroma vegetal/herbáceo											
Intensidad de aroma alcohólico											
Intensidad de aroma alteración											
Intensidad aromas de oxidación											
Intensidad aromas microbiológicos											
Calidad Global del aroma											
FASE GUSTATIVA											
Carácter Alcohólico											
Acidez											
Afrutado											
Vegetal/ Verdor											
Amargor											
Cuerpo											
Salinidad											
Persistencia											
Calidad global del gusto/ armonía											

Enfrente las muestras siguientes en cuanto a preferencia hedónica, Orden de preferencia de izquierda (la preferida) a derecha (la secundaria)

Figura 37. Ficha para cata descriptiva

Nombre:		Nº de puesto:	
Fecha:		Nº de serie:	
Ante usted, hay tres muestras. Dos de ellas son iguales entre sí. Dígase que muestra es diferente, cuál prefiere y las diferencias observadas.			
MUESTRAS	Muestra diferente	Muestra preferida	Naturaleza e intensidad de la diferencia
A – B - C			

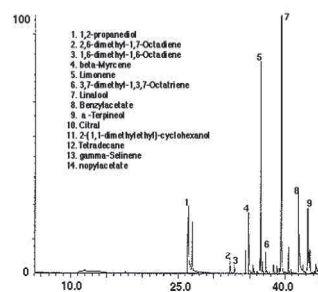
Figura 38. Ficha para cata triangular

VI.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El tratamiento estadístico de los datos se llevó a cabo mediante el empleo de la versión 20.0 del paquete estadístico IBM® SPSS (Chicago, USA) y XLstat software (Addinsoft, Paris, France)

Para el análisis normalizado de la varianza de las medias (ANOVA) se empleó el test de Tukey con probabilidades $p < 0,05$, $p < 0,01$ y $p < 0,001$ (poco significativa, significativa y muy significativa, respectivamente) en el análisis de la composición físico-química, volátil y características sensoriales de las uvas, mostos y vinos de estudio. Las gráficas y curvas para representar la evolución de los distintos parámetros de maduración, evolución de la fermentación, el IPA_v y los resultados del análisis organoléptico se realizaron empleando la hoja de cálculo Excel® (Office 2007 de Microsoft®).

También se realizaron análisis de componentes principales (ACP), para evaluar los efectos de las condiciones climáticas sobre la composición físico-química y aromática de las uvas de Moscatel de Grano Menudo en maduración (empleando XLstat software) y para evaluar la influencia de distintas técnicas enológicas y vitícolas sobre la composición volátil de las variedades Malvasía Aromática, Moscatel de Grano Menudo, Moscatel de Alejandría y Albillo Real (técnicas enológicas: elaboración con maceración prefermentativa en frío, empleo de distintas cepas de levaduras y tratamientos con lías; técnicas vitícolas: deshojado y estudio de distintos sistemas de conducción) (empleando IBM® SPSS).



VII.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

VII.1. EFECTO DE LAS FLUCTUACIONES CLIMÁTICAS INTERANUALES EN LA EVOLUCIÓN DE PRECURSORES GLICOSÍDICOS A LO LARGO DE LA MADURACIÓN EN LAS BAYAS DE cv. MOSCATEL DE GRANO MENUDO

Los mostos de las variedades Moscatel se caracterizan por un sabor y aroma floral muy apreciado para la elaboración de vinos blancos. Las características varietales de las uvas, que se desarrollan durante la maduración (Bayonove 1993), son uno de los factores más determinantes de la calidad y la tipicidad de los vinos Moscatel. El cultivo de Moscatel de Grano Menudo fue autorizado en el año 2002 por el Consejo Regulador de la Denominación de Origen “Vinos de Madrid”. Desde entonces, se ha cultivado en zonas con condiciones climáticas específicas de veranos cálidos, inviernos fríos y bajos niveles de lluvia que pueden influir positivamente en el potencial aromático de las uvas (Jackson & Lombard 1993; Bureau et al. 2000b). Se prevé que el cambio climático modifique la intensidad y duración de la radiación solar, las temperaturas y la disponibilidad de agua durante el ciclo de crecimiento de la vid afectando así a la industria vitivinícola (Hannah et al. 2013). Con el objetivo de evaluar el posible impacto de los efectos de las variaciones del clima en la elaboración de vinos blancos en la D.O. “Vinos de Madrid”, se ha realizado un estudio de la evolución de precursores aromáticos glicosídicos en uvas de Moscatel de Grano Menudo a lo largo de la maduración durante tres temporadas consecutivas (2013, 2014 y 2015).

VII.1.1. Influencia sobre los parámetros de maduración

En la Tabla 9 se muestra la evolución del pH, acidez titulable (AT) y la cantidad de azúcares (°Brix) junto con las temperaturas máximas y mínimas registradas en los días de muestreo a lo largo de la maduración de las uvas Moscatel de Grano Menudo en las campañas 2013, 2014 y 2015. Todos los parámetros de maduración presentaron diferencias significativas entre las vendimias en el momento la cosecha en las tres temporadas de estudio. Las fechas de envero y recolección en el año 2013 se retrasaron un mes con respecto a 2014 y 2015. Este hecho podría explicarse, en parte, por las cálidas condiciones de temperatura registradas en 2014 y 2015 en comparación con 2013 en la región de Madrid (Figura 39A). La elevada radiación solar y las altas temperaturas son factores que influyen fuertemente en la maduración de las uvas (Coelho et al. 2006). En esta línea, se ha sugerido que la luz actúa como activador de la maduración de la uva, modulando el perfil metabólico de las bayas y promoviendo la síntesis y acumulación de compuestos en el hollejo, entre los que se incluyen azúcares, ácidos, aminoácidos y fenilpropanoides. Del mismo modo, en un trabajo en el cv. Moscatel de Hamburgo (Carbonell-Bejerano & María 2013) se informó que las altas temperaturas afectaban a la maduración de las bayas acelerando el proceso reduciendo la acumulación de antocianinas en el hollejo y disminuyendo la acidez del mosto. Además, durante la primavera de 2013, las temperaturas fueron más suaves (Figura 39A) y las precipitaciones más abundantes (a finales de mayo, Figura 39B) con respecto a 2014 y 2015, coincidiendo con el periodo de floración. Hallazgos similares fueron informados por otros autores demostrando el retraso

de la floración y, en consecuencia del envero, como consecuencia de las precipitaciones (Jones & Davis 2000).

Tabla 9. Parámetros físico-químicos de las uvas de Moscatel de Grano Menudo en las vendimias 2013, 2014 y 2015 a lo largo de la maduración (media \pm dv; n=3).

Parámetros físico-químicos			Azúcares	pH	Acidez titulable	Tª Max	Tª Min
			(°Brix)		(g/L Ác. Tartárico)	(°C)	(°C)
Ste ^b .	Fecha	V ^c					
0	02-sep	2013	18,6 ± 0,0 b	3,21 ± 0,0 b	7,2 ± 0,2 a	31	15
	04-ago	2014	19,2 ± 0,0 a	3,37 ± 0,0 a	7,4 ± 0,0 a	35	19
	05-ago	2015	18,7 ± 0,0 b	3,11 ± 0,0 c	6,5 ± 0,0 b	37	21
1	10-sep	2013	21,7 ± 0,0 b	3,27 ± 0,0 b	5,9 ± 0,0 b	29	12
	11-ago	2014	22,1 ± 0,0 a	3,41 ± 0,0 a	6,9 ± 0,0 a	35	17
	10-ago	2015	20,1 ± 0,0 c	3,18 ± 0,0 c	5,6 ± 0,0 c	38	18
2	16-sep	2013	22,7 ± 0,0 a	3,39 ± 0,0 b	5,2 ± 0,0 b	30	11
	18-ago	2014	22,6 ± 0,0 a	3,49 ± 0,2 ab	5,8 ± 0,0 a	34	18
	17-ago	2015	22,0 ± 0,0 b	3,54 ± 0,1 a	4,3 ± 0,0 c	33	18
3	23-sep	2013	23,4 ± 0,0 c	3,34 ± 0,0 c	5,3 ± 0,0 a	31	13
	25-ago	2014	24,4 ± 0,0 a	3,50 ± 0,0 a	4,9 ± 0,0 b	36	13
	24-ago	2015	23,6 ± 0,0 b	3,44 ± 0,0 b	4,3 ± 0,1 c	26	15

Letras distintas entre cada columna indican diferencias significativas entre cosechas de acuerdo con el test de Tukey, $p < 0,05$. ^aTemperatura; ^bsemanas tras envero; ^cvendimia.

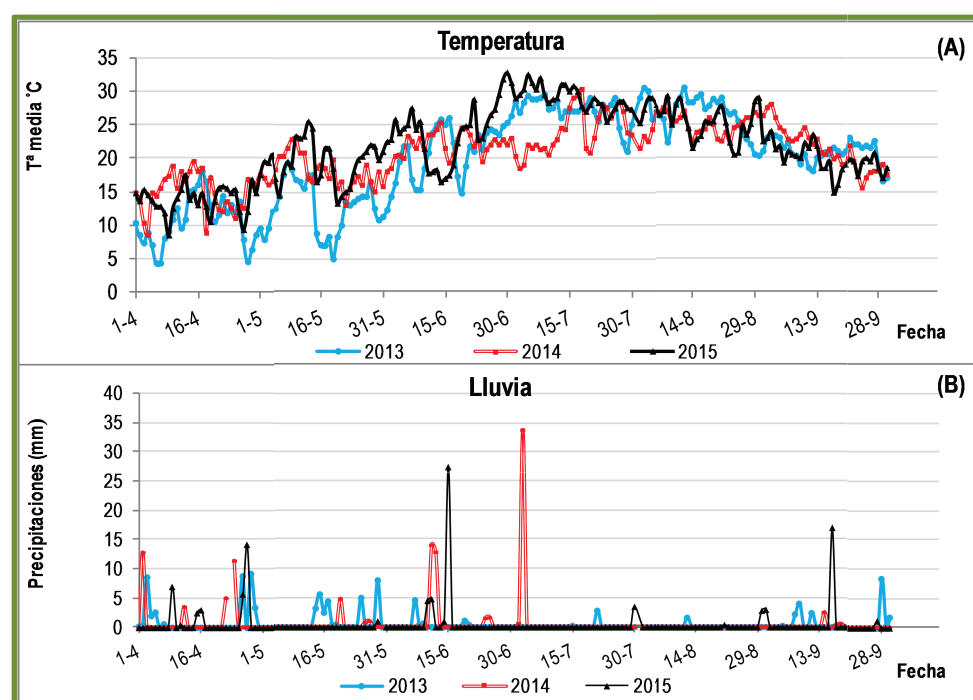


Figura 39. Evolución de la temperatura media (A) y precipitaciones (B) de abril a septiembre en 2013, 2014 y 2015 (estación meteorológica de la Finca “El Encín”)

Para establecer una relación entre los parámetros de maduración, la variación de las temperaturas y las lluvias caídas antes y durante el envero, se realizó un análisis de componentes principales (ACP) (Figura 40). El ACP extrajo dos factores (F1 y F2) que explicaron el 95,8% de la varianza representando el 69,09% el factor 1 y el 26,75% el factor 2. Se muestra como el mayor contenido en azúcar en la maduración está correlacionado con la mayor variación de temperatura y los niveles más altos de lluvia en fechas próximas al envero. Esas condiciones correspondían a la cosecha 2014 que fue recolectada un mes antes que 2013. Estos resultados sugieren que las altas temperaturas conducen a un adelanto de la madurez y a un mayor contenido de azúcares en las uvas. Es importante señalar la ausencia de lluvias a lo largo de la maduración en las campañas 2014 y 2015 mientras que en 2013 hubo algunas precipitaciones (8,8 mm) durante la primera etapa de crecimiento de las bayas (primera semana tras la fecha de envero). Estudios recientes han determinado el efecto común de las fluctuaciones climáticas sobre la maduración, concluyendo que, para cualquier viñedo, las diferencias climáticas tienen un efecto importante en el desarrollo de la maduración y calidad de la uva (Jones & Davis 2000; Bergqvist et al. 2001; Adams 2006). El exceso de estrés por déficit hídrico puede provocar daños en las hojas y en la maduración del fruto.

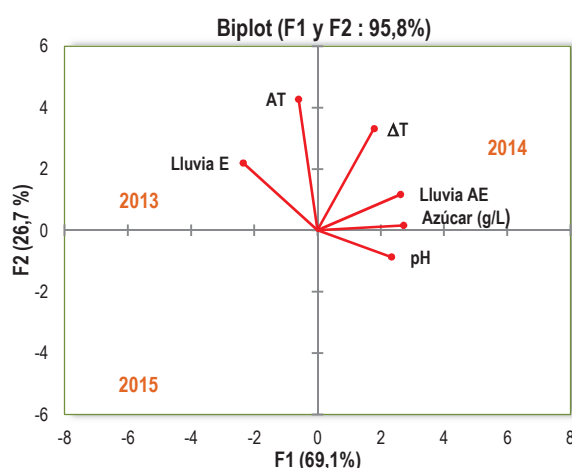


Figura 40. Análisis de componentes principales de las condiciones climáticas (lluvia antes del envero [AE], lluvia en envero [E] y variación de temperatura [ΔT]) y parámetros físico-químicos en maduración (azúcar, acidez titulable [AT] y pH).

De acuerdo con nuestros resultados, el pH de los mostos resultó significativamente superior y la acidez inferior en 2014 y 2015 con respecto a 2013 durante la última semana de muestreo, momento fijado para la recolección (Tabla 9). El ACP de la Figura 40 indica que el aumento de pH de los mostos está correlacionado con el incremento de las temperaturas, y que la acidez titulable disminuye con las temperaturas y aumenta con las lluvias en envero, coincidiendo con un estudio anterior en la variedad Tempranillo (Ramos et al. 2015). En este trabajo, se realizó una clasificación de las uvas basada en las características de acidez resultando que las uvas cultivadas en condiciones de humedad presentaron mayores valores de acidez titulable. Es sabido que una mayor disponibilidad de agua en la vid genera una mayor concentración de ácidos en las uvas (Luciano et al. 2013) mientras que el déficit hídrico la reduce

(Van Leeuwen & Seguin 1994). Así, los mostos de una misma variedad pueden poseer características típicas relacionadas con el cultivo en diferentes regiones pero la calidad potencial del vino dependerá de las condiciones climáticas de la temporada, como el nivel de lluvia y las fluctuaciones de la temperatura antes y durante el periodo de maduración (Jackson & Lombard 1993). Por esta razón, la selección del cultivo (y el clon) debería hacerse con el objetivo de optimizar la combinación del ciclo fenológico de la vid y las condiciones climáticas, promoviendo que la maduración se lleve a cabo durante la parte más fría de la estación, optimizando unas condiciones de luz solar y temperatura que aseguren un correcto desarrollo, acumulación de sólidos solubles y compuestos aromáticos en las bayas.

VII.1.2. Influencia sobre la evolución del Índice de Potencial Aromático Varietal durante la maduración

La Figura 41 representa la evolución del IPAv de uvas obtenidas en diferentes estados de maduración en 2013, 2014 y 2015, y su relación con el °Brix. El aumento más notable y estadísticamente significativo de IPAv se encontró a partir de 20 °Brix. El IPAv evolucionó de forma similar y mostró una alta correlación con el °Brix durante las tres temporadas. El mayor incremento en IPAv se obtuvo durante la última semana de maduración, período que se reconoce generalmente como el momento en que tiene lugar la mayor acumulación de compuestos aromáticos. En este momento, la radiación solar, la temperatura y la disponibilidad de agua juegan un papel importante en la acumulación de precursores aromáticos (Ribéreau-Gayon et al. 2003a). Desafortunadamente, no se disponía de muestras de uva en esta temporada para el análisis de precursores aromáticos en la semana 3. Nuestros resultados indican que las bayas de Moscatel de Grano Menudo experimentaron un aumento progresivo de precursores aromáticos glicosilados a lo largo de la maduración, coincidiendo con estudios anteriores realizados en diferentes variedades Moscatel (Park et al. 1991; Fenoll et al. 2009).

Los valores más altos de IPAv correspondieron a la vendimia 2013 durante todo el período de maduración. Las altas temperaturas registradas en los años 2014 y 2015 probablemente desencadenaron un adelanto de la madurez aromática de las uvas. De hecho, se ha sugerido que las fluctuaciones climáticas (incluyendo fenómenos meteorológicos extremos como las olas de calor) afectan desarrollo de las bayas impidiendo el alcance de la madurez óptima del fruto (Marais 1987).

Nuestros resultados coinciden con los obtenidos por Serrano de la Hoz et al. (2014) en uvas tintas y blancas confirmando que el IPAv puede ser una herramienta útil para la bodega en el control del potencial aromático varietal permitiendo fijar el momento óptimo para la cosecha en función de la madurez aromática de las uvas.

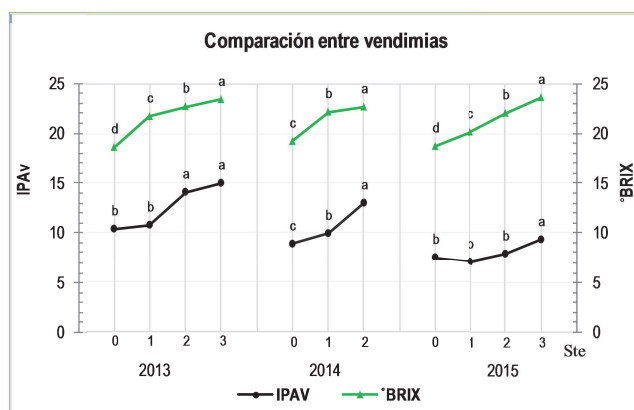


Figura 41. Evolución comparativa del (IPAv) y °Brix durante la maduración en las vendimias 2013, 2014 y 2015. Letras distintas indican diferencias significativas entre semanas de muestreo de acuerdo con el test de Tukey ($p < 0,05$; $n=3$).

Ste: semanas tras enero.

VII.1.3. Influencia sobre el desarrollo de precursores glicosídicos durante la maduración

Se evaluó la concentración de compuestos aromáticos volátiles obtenidos a partir de los precursores glicosilados de las bayas de Moscatel de Grano Menudo en cuatro momentos a lo largo de la maduración (semana 0 [envero] y semanas 1, 2 y 3 tras el enero [Ste1, Ste2, Ste3]) en las tres campañas de estudio 2013, 2014 y 2015 siguiendo el método descrito en el apartado VI.4.3.1.1 de materiales y métodos. Debido a la falta de muestra suficiente para el análisis de compuestos aromáticos, no hay datos de la semana 3 en 2014. El análisis incluyó la evaluación de 20 monoterpenos, 5 C13-norisoprenoídes, 2 compuestos C6, 3 alcoholes y 3 bencenoides. Se estudió la evolución de los compuestos agrupados en familias químicas (Figura 42) y como compuestos individuales (Tabla 10).

Los resultados del ANOVA se muestran en la Tabla 10. El factor vendimia afectó a la concentración de la mayoría de compuestos analizados (91%). Además, 31 de los 33 volátiles estudiados resultaron significativamente influenciados por la interacción Ste \times V y el 82% se vieron afectados por la fecha de muestreo (Ste).

Durante la penúltima semana de muestreo, los mayores niveles en términos de concentración aromática total se obtuvieron en la vendimia 2013, alcanzándose una concentración total de 4599 $\mu\text{g/L}$. Por el contrario, la concentración más baja se obtuvo en 2014 (3734 $\mu\text{g/L}$). En el ACP de la Figura 40 se observa que el año 2013 presentó lluvias durante el enero, mientras que 2014 se correlacionaba con elevadas variaciones de temperatura y lluvia próximas al enero (lluvias AE). Por su parte 2015, que se caracterizó por condiciones climáticas intermedias, obtuvo una concentración total de aromas también intermedia (4563 $\mu\text{g/L}$) con respecto a los niveles de 2013 y 2014 una semana antes de la fecha fijada para la vendimia. Estos resultados sugieren que la temperatura y la disponibilidad de agua pueden tener un efecto significativo en el desarrollo de precursores de aromas. Resultados similares han sido informados en otros estudios sugiriendo que, con niveles parecidos de concentración de azúcar, condiciones de

temperaturas más elevadas condujeron a menor concentración de aromas en distintos cultivares (Reynolds & Wardle 1993; Belancic et al. 1997) incluyendo Moscatel (Carbonell-Bejerano & María 2013).

No obstante, cabe señalar que en nuestro estudio la concentración de precursores totales no fue muy diferente entre las vendimias (Figura 42). Sin embargo, al comienzo de la maduración, la concentración de todas las familias de compuestos evaluados resultó significativamente inferior en 2015 con respecto a 2013 y 2014 con la única excepción de la familia de los bencenoides. De la misma forma que en la semana del envero (Ste0), la familia de los bencenoides fue significativamente superior a lo largo de la maduración en 2015 en comparación con 2013 y 2014. El ANOVA muestra el efecto significativo del factor vendimia sobre el alcohol bencílico y β -feniletanol. La semana de muestreo y la interacción StexV no causaron efecto sobre dichos compuestos. El glicósido eugenol presentó variaciones significativas en las distintas etapas de maduración de las tres cosechas, entre las vendimias y la interacción StexV. Estos resultados coinciden con los encontrados por Torchio et al. (2016) en uvas de Moscato bianco.

VII.1.3.1. Influencia sobre la síntesis de monoterpenos

La familia de los monoterpenos es el grupo de compuestos con mayor presencia a lo largo de la maduración en las tres vendimias analizadas (Figura 42A). Si comparamos las tres temporadas, se observa una concentración similar de monoterpenos en las últimas etapas de maduración, sin embargo, en los primeros estados sí hubo diferencias significativas entre las tres cosechas. La vendimia 2013 exhibió la mayor concentración al principio de la maduración (3916 $\mu\text{g/L}$) en comparación con 2014 (2862 $\mu\text{g/L}$) y 2015 (2254 $\mu\text{g/L}$) (Tabla 10). Estos resultados sugieren que los mayores niveles de precipitaciones antes del envero en 2014 y las altas temperaturas en 2014 y 2015 pueden haber tenido un efecto negativo en el desarrollo de precursores de terpenos. Para establecer una relación entre las condiciones climáticas, parámetros físico-químicos y la síntesis de precursores glicosídicos, se realizó un análisis de componentes principales (Figura 43) que extrajo dos factores principales (F1 y F2) que explicaban el 93% de la varianza con un 56,5% el F1 y 36,5% F2. Se observa cómo la familia de monoterpenos se relacionó positivamente con las lluvias registradas durante el envero (lluvias E). Los terpenos con las concentraciones más altas fueron linalol, nerol, geraniol y ácido geránico (Tabla 10). El linalol y nerol fueron los más abundantes, y junto con el geraniol, se encuentran entre los compuestos aromáticos más importantes que determinan el aroma típico de los vinos Moscatel (Ribéreau-Gayon et al. 1975; Gunata et al. 1985). El linalol es el principal compuesto responsable de los aromas florales y cítricos de las variedades Moscatel. Nuestros resultados indican que las concentraciones de linalol, nerol, geraniol y ácido geránico aumentaron a lo largo de la maduración de las bayas. Los niveles más altos de linalol y nerol se encontraron en 2013 al comienzo y final de la madurez. El geraniol se mostró la misma tendencia, excepto que la concentración más alta al final de la maduración se alcanzó en 2015. Otros estudios han informado acerca del aumento de los niveles de nerol, geraniol y linalol de diferentes cultivares de Galicia (cultivares blancos Agudelo, Blanco lexitimo, Godello y el cultivar rojo Serradelo) durante todo el período de maduración, alcanzándose las máximas concentraciones en el momento de la cosecha (Vilanova et al. 2012).

El potencial aromático de las uvas Moscatel incluye la presencia de terpenos poli-oxigenados tales como 3,7-dimetil-1,5-octadien-3,7-diol, óxido furánico de linalol (cis y trans), 3,7-dimetil-1,7-octadien-3,6-diol, óxido piránico de linalol (cis y trans). Aunque estos compuestos no contribuyen directamente al aroma, pueden ser transformados por hidrólisis ácida liberando sustancias volátiles odorantes. Por ejemplo, el 3,7-dimetil-1,5-octadien-3,7-diol es inodoro, pero representa una fuente de aroma significativa de hotrienol que aporta notas florales a los vinos (Sánchez-Palomo et al. 2006). Éste compuesto, junto con el óxido piránico de linalol (trans), sufrió fluctuaciones significativas durante la maduración en los tres años. Ambos obtuvieron la máxima concentración al final de la maduración en 2015 en comparación con 2013. También se identificaron hidratos de nerol, geraniol, citronelol y linalol junto con las formas Z-8-hidroxilinalol y E-8-hidroxigeraniol. Todos ellos, a excepción del hidrato de citronelol, fueron más altos al final de la maduración en 2015. Estos compuestos también fueron notificados por otros autores en la fracción ligada de mostos Moscatel (Bureau et al. 2000b; Sánchez-Palomo et al. 2006).

El análisis de componentes principales de la Figura 44, representa la relación entre los factores climáticos, parámetros de maduración y los terpenos más importantes relacionados con aromas de Moscatel. Se muestra la relación negativa entre algunos compuestos (nerol, α -terpineol, geraniol y linalol) y la variación de la temperatura. Por el contra, el citronelol se relacionó positivamente. Otros autores observaron que la concentración de linalol en las bayas se veía afectada por las altas temperaturas, mientras que no se observaba efecto perjudicial en el contenido de geraniol (Duchêne et al. 2016). Además, los terpenos más importantes para el aroma de uvas Moscatel parecen estar correlacionados positivamente con lluvias en enero y negativamente con las lluvias antes del enero.

VII.1.3.2. Influencia sobre la síntesis de C13-norisoprenoides, compuestos C6 y alcoholes

En cuanto a la concentración de la familia de los C13-norisoprenoides (Figura 42B), se encontraron diferencias significativas entre las vendimias al inicio de la maduración. Las concentraciones más altas se dieron en 2013 y 2014. Por otra parte, el ACP de la Figura 43 muestra que las lluvias durante el enero podrían favorecer la acumulación de C13-norisoprenoides. Sin embargo, debe señalarse que el aumento de volumen de las bayas tras el enero puede provocar un efecto dilución dando lugar a la reducción en el contenido de ciertos compuestos, hecho que podría explicar parcialmente la reducción de 3-hidroxi- β -damascona durante la maduración en las tres vendimias (Tabla 10).

3-Hidroxi-7,8-dihidro- β -ionol y 3-Oxo- α -ionol son las agliconas con los niveles más altos en las tres temporadas (Tabla 10), hecho que coincide con estudios previos realizados en otros cultivos (Razungles & Bayonove 1988; Vilanova et al. 2012). Estos dos compuestos, y 3-hidroxi- β -damascona, no son olorosos, pero durante el periodo de conservación del vino pueden experimentar un reajuste por hidrólisis ácida generando β -damascenona (Sefton 1998; Cabaroglu et al. 2003), un potente odorante con atributos a flores, miel, membrillo y violetas cuyo umbral de percepción olfativa es muy bajo: 2 ng/L en agua y 50 ng/L en solución alcohólica al 10% (Yuan et al. 2015).

En cuanto a los compuestos C6 y alcoholes (Figura 42C y 42D) liberados por hidrólisis enzimática, cabe señalar que no suelen encontrarse en altas concentraciones en su forma glicosilada. Así lo indicaron Sánchez-Palomo et al. (2006) en un estudio realizado en Moscatel de Grano Menudo. El 1-hexanol (Tabla 10), derivado de la actividad enzimática lipoxigenasa, fue el compuesto C6 más abundante. La concentración aumentó a medida que avanzaba la maduración, probablemente debido a una actividad enzimática más prolongada. Los compuestos C6 resultaron más abundantes en el año 2014. Se les relaciona con aromas vegetales no favoreciendo la calidad aromática de los vinos (Selli et al. 2006a). En el ACP (Figura 43) se correlacionaron positivamente con niveles de lluvia antes del envero y la mayor variación de temperatura (ΔT). Resultados similares fueron informados por Mendez-Costabel et al. (2013) en la variedad Merlot cultivada en la región de California. Encontraron que el mayor volumen de riego aplicado durante la primavera más cálida afectaba al crecimiento de la vid promoviendo la síntesis de compuestos relacionados con aromas vegetales.

Por tanto, el efecto del año causó diferencias significativas en la mayoría de los compuestos analizados en este trabajo permitiendo agrupar las muestras de las tres cosechas en función de las variables climáticas y compuestos aromáticos (Figura 43). La vendimia 2013 se caracterizó por temperaturas más suaves, mayores precipitaciones durante las primeras etapas del periodo vegetativo (de abril a mayo) y presencia de lluvias durante la semana del envero (primera etapa de desarrollo de la baya) dando lugar a uvas con elevadas concentraciones de monoterpenos y C13-norisoprenoides. La vendimia 2014 se caracterizó por la mayor variación de temperatura (22 °C) y presencia de lluvias previo al envero, lo que dio lugar a uvas con mayor contenido de compuestos C6 y alcoholes, y el contenido más bajo de terpenos de los tres años. El año 2015 se caracterizó por las variaciones de temperatura más bajas (11 °C), dando lugar a uvas con más contenido de bencenoides en comparación con 2013 y 2014.

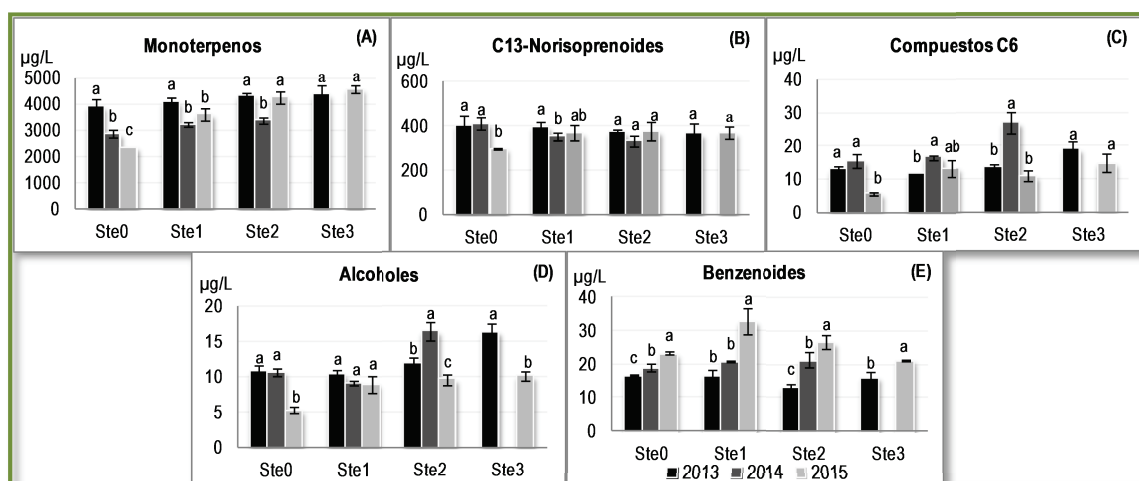


Figura 42. Evolución de las familias de compuestos glicosídicos ligados: monoterpenos (A), C13-Norisoprenoides (B) compuestos C6 (C), alcoholes (D) y bencenoides (E) durante la maduración en las vendimias 2013, 2014 y 2015. Letras distintas indican diferencias significativas entre cosechas de acuerdo con el test de Tukey ($p < 0,05$; $n=3$). Ste: semana tras envero.

Tabla 10. Concentraciones medias ($\mu\text{g/L}$) de agliconas volátiles liberadas por hidrólisis enzimática de la fracción glicosilada de Moscatel de Grano Menudo a lo largo de la maduración en 2013, 2014 y 2015 (n=3).

Compuestos	V ^a	2013				2014				2015				ANOVA		
	Ste. ^b	0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3	Ste.	V	StexV
Monoterpenos																
Oxido furánico de linalol (cis)	1439	51,8	48,4	47,9	51,4	40,4 ab	44,6 a	36,4 b	-	32,1 b	57,2 a	65,4 a	63,3 a	***	***	**
Oxido furánico de linalol (trans)	1467	25,5 a	20,4 ab	19,0 b	19,3 b	34,0 a	33,2 a	23,3 b	-	33,1 b	41,6 a	34,0 ab	29,6 b	***	***	***
Linalol	1546	555,7 c	758,9 b	898,1 a	877,6 ab	336,7	379,4	391,8	-	113,4d	302,7 c	520,4 b	727,3 a	***	***	***
Hotrienol	1605	3,5	2,2	2,4	2,2	2,7	2,6	2,2	-	2,6 b	3,0 ab	3,2 ab	3,4 a	Ns	***	***
α-Terpineol	1691	92,9 b	99,4 ab	107,8 ab	116,5a	61,3	59,6	62,3	-	48,5 b	72,5 a	78,4 a	80,6 a	***	***	***
3,7-Dimetil-2,6-octadienal	1721	3,0	3,0	3,0	2,2	2,3	2,6	3,1	-	1,4 c	2,5 b	2,5 b	2,9 a	**	**	***
Oxido piránico de linalol (trans)	1733	144,3 a	113,5 b	101,6 b	117,5 ab	91,8	110,4	97,0	-	113,2 c	188,7 a	142,1 b	119,9 bc	***	**	***
Oxido piránico de linalol (cis)	1760	11,9 a	9,4 b	7,5 b	7,1 bc	8,6	9,2	8,9	-	8,1 b	13,2 a	16,3 a	14,8 a	Ns	***	***
Citronelol	1764	21,9 c	27,8 b	31,3 b	37,2 a	29,5 ab	23,8 b	35,1 a	-	13,6 d	20,1 c	26,6 b	31,2 a	***	***	**
Nerol	1796	512,4 b	601,9 ab	658,6 a	710,8 a	442,5 b	505,4 a	591,0 a	-	247,7 d	464,3 c	568,7 b	666,6 a	***	***	***
Geraniol	1845	403,1 b	422,1 b	470,7 ab	518,1 a	333,3 b	339,7 b	435,0 a	-	112,8 c	360,1 b	408,4 b	551,6 a	***	***	***
3,7- Dimetil-1,5-octadien-3,7-diol	1947	98,3 a	69,2 b	65,2 b	67,9 b	130,4 a	95,0 b	86,0 b	-	93,5 b	90,7 b	137,6 a	122,5 a	**	***	***
Hidrato de linalol	1978	20,7a	17,1 ab	15,8 b	19,0 ab	18,7	17,4	16,3	-	17,7 b	25,3 a	24,4 a	22,9 a	Ns	***	**
3,7- Dimetil-1,7-octadien-3,6-diol	2127	42,6	41,4	46,0	50,3	31,5	30,3	33,0	-	14,4 d	31,0 c	55,2 b	78,0 a	***	Ns	***
Hidrato de citronelol	2205	260,3	240,8	219,6	240,8	165,2	148,2	160,6	-	193,2 ab	243,9 a	199,5 ab	151,3 b	***	**	**
Hidrato de nerol	2269	62,6 a	50,2 ab	42,5 b	51,4 ab	57,3	66,5	66,2	-	77,4 b	100,2 a	80,2 b	67,3 b	**	***	***
Z-8-Hidroxilinalol	2271	188,6	158,4	170,4	170,5	153,0	157,9	134,8	-	114,8 c	177,3 b	256,3 a	263,5 a	***	***	***
Hidrato de geraniol	2307	410,8 a	356,4 ab	300,0 b	316,4 b	439,0	424,7	441,1	-	428,4 ab	533,3 a	469,9 ab	402,7 b	**	***	**
E-8-Hidroxigeraniol	2328	38,9	38,3	36,6	40,1	44,0	44,6	50,4	-	42,3 b	65,5 a	62,5 a	66,7 a	**	***	**
Ácido geránico	2338	968,0	1006,7	1080,4	959,1	440,0	710,5	687,1	-	546,3 b	802,3 ab	1019,4 a	1106,4 a	**	***	***
Total monoterpenos		3916,8	4085,5	4216,6	4375,4		2862,2	3205,6		2254,5	3595,4	4171,0	4572,5			
C13-norisoprenoides																
3-Hidroxi-β-damascona	2527	31,7 a	19,7 b	17,1 b	19,0 b	29,4 a	22,4 b	22,2 b	-	43,0 a	45,3 a	36,0 ab	25,7 b	***	***	**
3-Hidroxi-7,8-dihidro-β-ionona	2545	24,4 b	31,8 a	28,2 ab	29,0 ab	33,0 a	19,4 a	24,0 b	-	10,3 c	12,8 bc	16,7 ab	20,8 a	**	***	***
3-Oxo-α-ionol	2621	122,1	115,2	100,3	94,8	107,0	87,8	93,5	-	105,5 b	124,5 ab	132,8 a	112,6 ab	Ns	***	**
4-Oxo-β-ionol	2627	31,9	35,6	35,4	38,6	35,3	33,8	38,5	-	24,6 b	36,9 a	37,4 a	38,1 a	***	Ns	*
3-Hidroxi-7,8-dihidro-β-ionol	2657	166,2 a	164,2 ab	163,9 b	156,0 b	183,3 a	151,8 b	133,6 c	-	98,8 b	127,0 a	124,4 a	140,5 a	***	***	***
Total C13-norisoprenoides		376,3	366,5	344,9	337,4	388,0	315,2	311,8		282,2	346,5	347,3	337,7			
Compuestos C6																
1-Hexanol	1350	8,1 b	9,8 b	12,3 b	17,0 a	13,0 b	14,0 b	24,4 a	-	4,3 b	10,8 a	9,3 a	12,8 a	***	***	***
Cis-3-Hexen-1-ol	1380	1,1	1,3	0,9	1,1	1,0	1,0	0,9	-	0,8 b	1,6 a	1,1 a	1,2 a	**	Ns	*
Total compuestos C6		9,2	11,1	13,2	18,1	14,0	15,0	25,3		5,1	12,4	10,4	14,0			
Alcoholes																
1-Octen-3-ol	1450	4,2 b	4,6 b	6,1a	7,4 a	3,6 b	2,8 b	6,4 a	-	1,2 c	2,5 b	2,5 b	3,9 a	***	***	***
1-Heptanol	1455	2,5 b	2,0 b	2,3 b	3,4 a	2,4 b	2,9 b	3,8 a	-	1,2 b	2,1 a	2,2 a	2,3 a	***	***	***
1-Octanol	1556	2,3 b	2,4 b	2,6 b	3,7 a	2,9 b	2,3 b	4,5 a	-	1,4 b	2,9 a	3,0 a	2,9 a	***	***	***
Total alcoholes		9,0	9,0	11,0	14,5	8,9	8,0	14,7		3,8	7,5	7,7	9,1			
Bencenoides																
Alcohol bencílico	1868	4,6 a	4,1 ab	3,6 b	3,9 ab	4,0	5,7	5,7	-	5,8 b	9,1 a	7,2 ab	8,0 ab	Ns	**	Ns
β-feniletanol	1901	8,2	8,4	8,5	8,1	8,5	10,2	10,4	-	10,9 b	15,5 a	13,1 ab	10,9 b	Ns	**	Ns
Eugenol	2151	3,8 a	4,4 a	1,4 b	4,4 a	6,4	4,9	5,2	-	6,6 a	8,3 a	6,4 a	2,5 b	***	***	***
Total bencenoides		16,6	16,9	13,5	16,4	18,9	20,8	21,3		23,3	32,9	26,7	21,4			
Total general		4327,9	4489,0	4599,2	4761,8	3292,0	3564,7	3734,7		2568,9	3994,7	4563,1	4954,7			

^aVendimia; ^bSemana tras envero; ^cÍndice de retención en columna DB-Wax. Compuestos cuantificados como equivalentes de 4-nonanol. -: no hay dato. Valores con letra distinta muestran diferencias entre las semanas de muestreo por vendimia de acuerdo con el test de Tukey: *, **, *** y Ns corresponden a $p < 0,05$, $p < 0,01$, $p < 0,001$ y no significativo respectivamente.

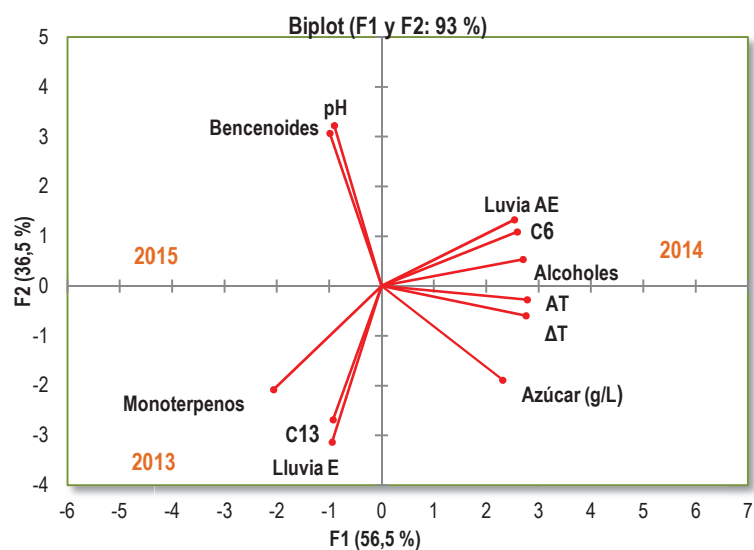


Figura 43. Análisis de componentes principales de las condiciones climáticas (lluvia antes del envero [AE], lluvia en envero [E] y variación de temperatura [ΔT]), parámetros físico-químicos (azúcar, acidez titulable [AT] y pH) y la fracción glicosilada (monoterpenos, C13-norisoprenoides, compuestos C6, alcoholes y bencenoides) de las uvas en maduración.

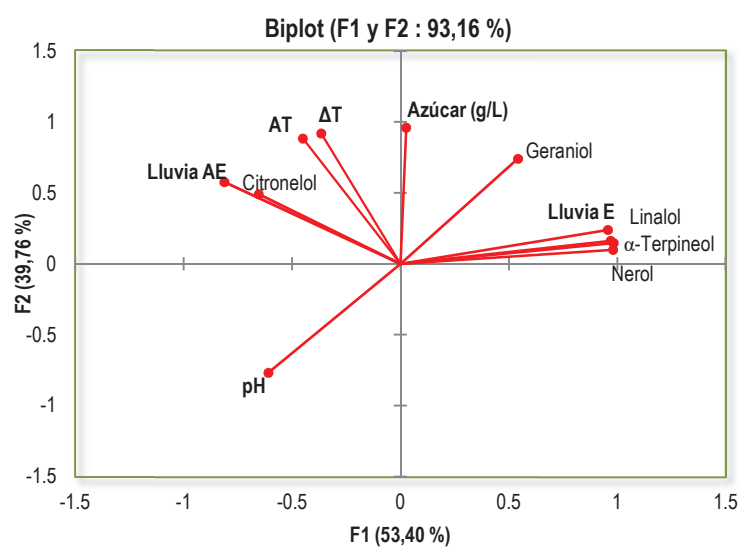


Figura 44. Análisis de componentes principales de las condiciones climáticas (lluvia antes del envero [AE], lluvia en envero [E] y variación de temperatura [ΔT]), parámetros físico-químicos (azúcar, acidez titulable [AT] y pH) y monoterpenos liberados de las uvas en maduración.

VII.2. INFLUENCIA DE PRÁCTICAS ENOLÓGICAS EN LAS CARACTERÍSTICAS DE MOSTOS Y VINOS DEL cv. MALVASÍA AROMÁTICA

Como primera medida de adaptación al cambio climático, este estudio se centrará en variaciones en las prácticas de bodega mediante el empleo de nuevas técnicas tecnológicas y microorganismos mejor adaptados con el fin de intensificar el potencial aromático de los vinos blancos de la D.O. “Vinos de Madrid” preservando las características organolépticas y diferenciales de la zona. Para ello, se eligió el cv. Malvasía Aromática, una variedad de uva blanca de origen italiano cultivada en España desde el siglo XIV cuyas características aromáticas (presencia de terpenos responsables de aromas cítricos y florales que recuerdan a Moscatel [Cabello et al. 2012]) y compuestos aromáticos de fermentación, principalmente ácidos grasos y sus ésteres, que le confieren notas afrutadas [Amerine & Roessler 1976; Flanzy et al. 2000a; Chacon et al. 2009]) y físico-químicas (mostos con elevada acidez y bajo pH) hacen que sea un varietal adecuado para cumplir con el objetivo I.2 del presente trabajo.

Los resultados de este apartado se ordenan en función del tipo de práctica aplicada apareciendo en primer lugar el tratamiento prefermentativo de maceración pelicular en frío y posteriormente la aplicación de cepas de levaduras específicas de la zona y una comercial. Por último se abordará el efecto del empleo de lías durante el periodo de envejecimiento de los vinos en botella. Todos los ensayos se realizaron con el cv. Malvasía Aromática cuyo viñedo se encontraba en la finca experimental “El Socorro” situada en Colmenar de Oreja perteneciente a la Subzona de Arganda. Las características del viñedo se encuentran detalladas en el apartado VI.2.1.1.2 de materiales y métodos.

VII.2.1. Efecto de maceración prefermentativa en frío

En el caso de los tratamientos prefermentativos, se realizó un estudio sobre la influencia de dicho tratamiento en las características del mosto y del vino así como sobre el desarrollo de la fermentación. Posteriormente se estudió la influencia de dichos tratamientos sobre la composición aromática y las características sensoriales de los vinos, incluyendo un estudio estadístico de los resultados. El método de elaboración convencional junto con los dos métodos de maceración empleados (maceración larga durante 18 horas y maceración corta durante 6 horas) se describen en los apartados VI.3.3.1 y VI.3.3.2 de materiales y métodos.

VII.2.1.1. Influencia sobre las características generales del mosto y desarrollo de la fermentación

Debido a la gran influencia que tiene las características de la materia prima en el producto final, es importante determinar los efectos de la maceración prefermentativa sobre las características físico-químicas del mosto. En la Tabla 11 aparecen reflejados los parámetros generales estudiados en los mostos procedentes de dos ensayos de maceración distintos tiempos (ensayo 1 [E1]: maceración durante 18 h [M18] y ensayo 2 [E2]: maceración durante 6 horas [M6]) y sus correspondientes vinos control, elaborados de forma convencional (C).

Se observa, de forma general, una disminución de la acidez titulable del mosto con la maceración con un ligero aumento de pH. Esto es debido a la cesión de cationes del hollejo al mosto durante la etapa previa de maceración, y tiene como consecuencia la disminución del ácido tartárico en forma de bitartrato potásico y salificación de los ácidos (Flanzy 2000b). El grado Brix no presenta diferencias notables en ninguno de los dos estudios. Uno de los efectos que tiene la maceración pelicular es el enriquecimiento de los mostos en compuestos nitrogenados, esenciales para el correcto desarrollo de las levaduras durante la fermentación. En estos mostos, los resultados revelan un aumento del nitrógeno fácilmente asimilable (NFA) con el tiempo de maceración, siendo más notable con la maceración larga, (quizá indicar algún número, para hacerse idea del incremento) la maceración durante 6 horas no supuso variaciones notables en el contenido de NFA. Estos resultados concuerdan con estudios realizados por otros autores (Aldave 1992; Sánchez-Palomo et al. 2007a), donde un periodo de contacto con los hollejos favorece el enriquecimiento de los mostos en el contenido de aminoácidos.

El efecto que produce la maceración en ambos ensayos no es muy acusado, lo cual podría estar relacionado con la baja temperatura (10 °C) y el periodo de tiempo de contacto con los hollejos, en comparación con otros estudios en variedades blancas (15,5 °C, 20 °C y 24 °C [Lateyron 1983]).

Tabla 11. Análisis general de los mostos Malvasía en dos ensayos (E1 y E2) con elaboración convencional (C) y maceración prefermentativa durante 18 horas (M18) y 6 horas (M6) (media \pm dv*) (n=2).

	E1		E2	
	C	M18	C	M6
°Brix	23,2 \pm 0,1	23,1 \pm 0,1	21,4 \pm 0,1	20,3 \pm 0,1
pH	3,20 \pm 0,02	3,23 \pm 0,02	3,25 \pm 0,0	3,26 \pm 0,0
Acidez titulable (g/L ác. tartárico)	5,9 \pm 0,1	5,7 \pm 0,1	5,7 \pm 0,1	5,4 \pm 0,1
NFA (mg/L)	135,0 \pm 0,00	151,3 \pm 0,00	109,9 \pm 6,4	105,0 \pm 12,0

* dv: desviación estándar

Además de los parámetros generales, también se determinó la influencia que tenía la maceración pelicular sobre la extracción de precursores aromáticos en el mosto. Es sabido que la mayor parte de precursores se encuentran en el hollejo de la uva (Bayonove 1993), por lo que se empleó la técnica de la maceración pelicular prefermentativa en frío con la intención de ensalzar el carácter varietal de los vinos. El efecto de la maceración depende de la variedad de uva y de las condiciones de contacto (tiempo y temperatura). Si conocemos el contenido varietal de referencia en uvas o mosto podemos estimar la cantidad de aromas varietales que serán liberados al vino a partir de los precursores. En la Figura 45 se representa el efecto sobre el IPA_v de los dos tipos de maceración para mostos de la variedad Malvasía tomados antes (AM) y después (DPM) de ser macerados durante 18h (maceración larga) y 6h (maceración corta), ambas realizadas a 10 °C de temperatura.

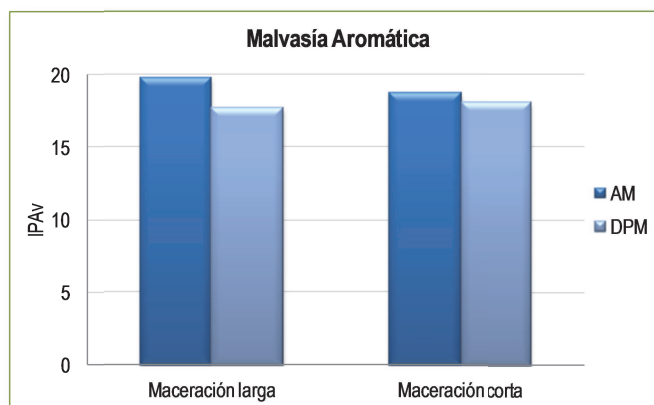


Figura 45. Comparación del IPAv de mostos Malvasía Aromática antes y después de macerar durante 18h (maceración larga) y 6h (maceración corta) ($p \leq 0,05$; $n=3$).

En los dos ensayos, los resultados de IPAv muestran un comportamiento similar para los mostos antes y después del contacto con los hollejos. En ambos casos, el contenido de precursores aromáticos extraídos muestra una tendencia a disminuir siendo más pronunciado este descenso en el caso de la muestra procedente de maceración larga, pero en ninguna de las dos maceraciones con trascendencia estadística. A la vista de los resultados, la maceración no tuvo una influencia significativa sobre el total de precursores aromáticos extraídos. Esta conducta indica que probablemente la máxima cantidad de precursores fue obtenida durante los primeros instantes de contacto entre los hollejos y el mosto, tras el encubado, momento en el que se tomó la muestra. La pérdida de IPAv en el mosto macerado durante más horas sugiere que las operaciones en bodega realizadas durante un periodo de tiempo prolongado no favorecen la actividad de las enzimas implicadas en los procesos de extracción de precursores aromáticos. Resultados similares para la variedad Blanquiña fueron encontrados por Serrano de la Hoz (2014a).

Mostos procedentes de dos parcelas de la variedad Albillo (Figura 46) mostraron un comportamiento parecido. La cantidad precursores aromáticos obtenidos tras 18h de maceración en el mosto procedente de la finca La Camacha fue ligeramente inferior al de la muestra sin macerar pero sin presentar diferencias significativas. El otro Albillo, de la finca Lancha de la Osa, fue sometido a maceración prefermentativa durante 6 h, el resultado mostró que la maceración si había tenido influencia sobre la extracción de precursores ya que se apreciaba un aumento significativo del IPAv. Estos resultados son especialmente reveladores en el caso de variedades neutras, ya que, como se ha descrito, no se caracterizan por ser ricas en precursores aromáticos, por lo que es importante encontrar las condiciones de elaboración más adecuadas para intentar extraer el máximo de aromas que serán transmitidos al vino.

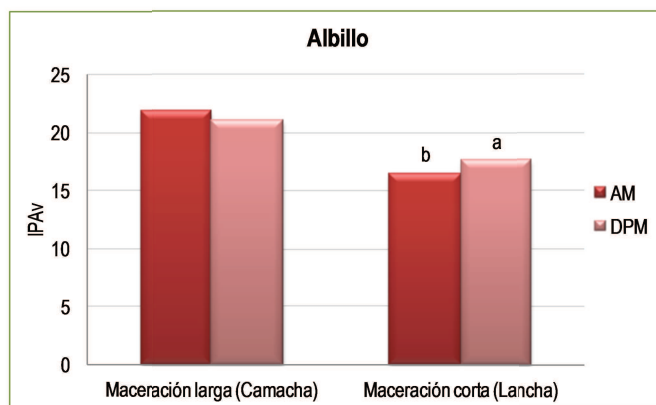


Figura 46. Comparación del IPAv de mostos de la variedad Albillo antes y después de macerar durante 18h (maceración larga) y 6h (maceración corta). Letras distintas indican diferencias significativas entre cada grupo de datos ($p \leq 0,05$; $n=3$).

Por último, se evaluó el efecto de las mismas condiciones de maceración prefermentativa en mostos de la variedad aromática Moscatel de Grano Menudo (Figura 47). En este caso, el proceso de maceración en sí parece causar más efecto que las condiciones de maceración ya que en ambos casos se apreció un incremento significativo de los precursores aromáticos extraídos.

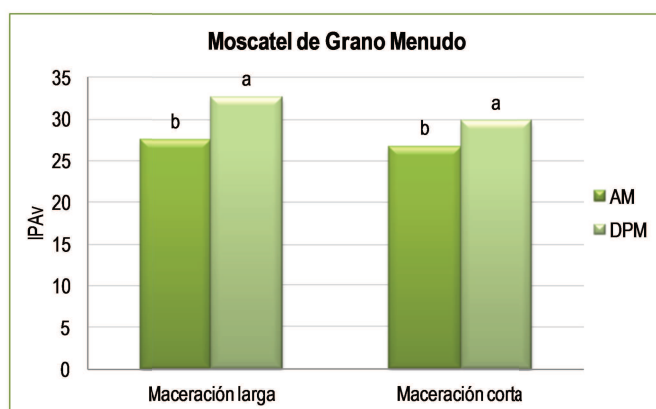


Figura 47. Comparación del IPAv de mostos de la variedad Moscatel de Grano Menudo antes y después de macerar durante 18h (maceración larga) y 6h (maceración corta). Letras distintas indican diferencias significativas entre cada grupo de datos ($p \leq 0,05$; $n=3$).

Los diferentes mostos de la variedad Malvasía, tanto los macerados (M18 y M6) como los no macerados (C), tras ser desfangados, fueron inoculados con una cepa de levadura seca activa comercial (Vario, de la firma Agrovín) y se realizó un control diario de temperatura y densidad para determinar la influencia de la maceración prefermentativa sobre la cinética de las fermentaciones.

Las Figuras 48 y 49 muestran la evolución de la media de las fermentaciones donde se puede apreciar gráficamente cómo la maceración pelicular durante 6 horas no parece afectar al desarrollo de la

fermentación no encontrándose diferencias en cuanto al tiempo y velocidad de fermentación entre las vinificaciones (Tabla 12). Sin embargo, en el caso de la maceración durante 18 horas, sí se aprecian diferencias en cuanto al tiempo y velocidad de fermentación con respecto al convencional. La fermentación del mosto macerado termina casi una semana antes que la del convencional. Entre los factores que determinan el desarrollo de la fermentación, el contenido en nitrógeno asimilable y su riqueza en nutrientes y activadores de la fermentación, parecen tener una clara influencia sobre el proceso (ver Tabla 11).

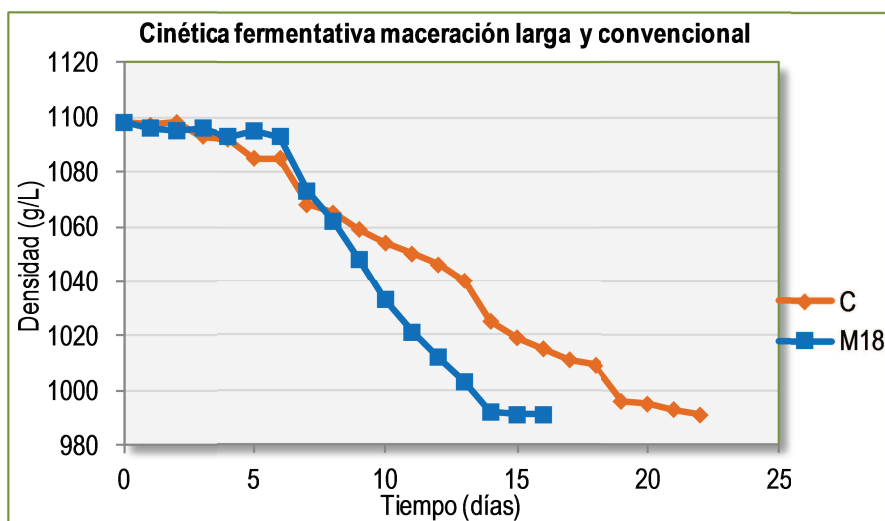


Figura 48. Influencia de la maceración pelicular durante 18 (M18) horas sobre la cinética fermentativa de mostos de Malvasía.

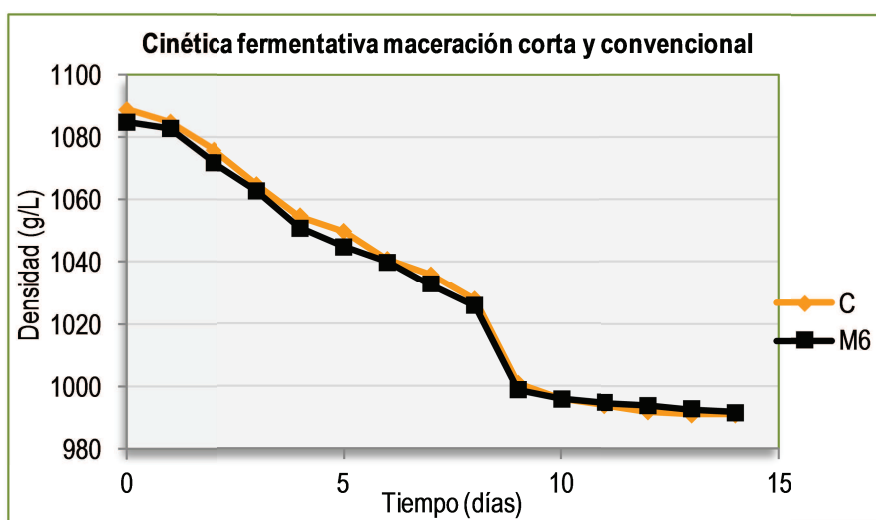


Figura 49. Influencia de la maceración pelicular durante 6 horas (M6) sobre la cinética fermentativa de mostos de Malvasía.

Tabla 12. Influencia de la maceración pelicular sobre la velocidad de fermentación. V₅₀: velocidad de consumo del 50% del contenido en azúcar; V_f: velocidad de fermentación (% de azúcar consumido a diario).

	Elaboración	V ₅₀ (%)	V _f (%)
E1	C	8,3	4,5
	M18	11,1	6,7
E2	C	16,7	7,7
	M6	16,7	7,1

VII.2.1.2. Influencia sobre las características generales de los vinos

Una vez finalizada la fermentación, los vinos fueron conservados en frío para su clarificación y estabilización. A continuación se les realizó un análisis de parámetros generales para determinar la influencia de la maceración en la composición general final de los vinos. En la Tabla 13 aparecen reflejadas las características generales medias de los vinos convencionales y macerados a distintos tiempos. Como cabía esperar, dado que los mostos partían de un mayor °Brix (indicado en la Tabla 11), el grado alcohólico del vino convencional del ensayo 2 es superior al macerado. En cuanto a la acidez volátil cabe destacar la diferencia entre los vinos procedentes del primer ensayo, donde el vino convencional tuvo unos valores significativamente superiores a los de la muestra macerada. Este hecho probablemente fue debido a la presencia de restos de anhídrido carbónico en la muestra analizada ya que en el análisis sensorial de seguimiento de la fermentación no se detectaron niveles indeseables de ácido acético.

Con respecto al pH y la acidez titulable, durante el primer ensayo se mantuvieron las diferencias encontradas previamente en los mostos, la maceración corta (M6) no influyó en sus valores. Los resultados de azúcares residuales muestran que todas las vinificaciones han llegado a término asegurándonos una concentración de azúcar por debajo de 5 g/L característico de un vino blanco seco (Ribéreau-Gayon et al. 2003a) así como la estabilidad microbiana al finalizar la fermentación.

Tabla 13. Parámetros generales de los vinos del ensayo 1(E1): convencional (C) y maceración en frío durante 18 h (M18) y del ensayo 2 (E2): convencional y maceración 6 h (M6) (media ± dv) (n=3).

	E1			E2		
	C		M18	C		M6
Grado alcohólico (% v/v)	13,0	± 0,1	12,9 ± 0,08	13,8	± 0,12	13,0 ± 0,06
pH	3,20	± 0,01	3,18 ± 0,00	2,95	± 0,01	2,90 ± 0,01
Acidez titulable (g/L ác. tartárico)	7,1	± 0,1	6,6 ± 0,00	6,3	± 0,08	6,4 ± 0,04
Acidez volátil (mg/L ác. acético)	0,9	± 0,0	0,2 ± 0,0*	0,5	± 0,1	0,5 ± 0,0
Azúcares residuales (g/L)	2,81	± 0,35	2,84 ± 0,05	1,33	± 0,06	1,17 ± 0,15

Test de Tukey con niveles de significancia: *, **, *** significación al p < 0,05, p < 0,01, p < 0,001 respectivamente.

VII.2.1.3. Influencia sobre las características aromáticas de los vinos

Se determinó el contenido de la fracción libre del aroma en las cuatro vinificaciones realizadas con el fin de determinar la influencia de la maceración pelicular sobre el perfil aromático de los vinos. Además de los aromas varietales procedentes de las uvas, principalmente los pertenecientes a la familia de los

terpenoles, también se determinaron los generados durante la fermentación. Los compuestos han sido agrupados por familias aromáticas: terpenoles, C13-norisoprenoides, alcoholes, lactonas, ácidos, ésteres, aldehídos y cetonas. En la Tabla 14 se muestran las concentraciones de los 37 compuestos aromáticos estudiados de la variedad Malvasía bajo tres métodos de elaboración junto con un análisis de la varianza para determinar la influencia de dos tiempos de maceración (18 horas: maceración larga y 6 horas: maceración corta) sobre el contenido total de volátiles.

Por otra parte hay que tener en cuenta, que no todos los compuestos contribuyen por igual al perfil aromático de los vinos, con lo cual hay que hacer especial énfasis en los valores olfativos (OAV) valor de actividad olfativa de cada uno de ellos. La contribución real de cada compuesto al aroma del vino sólo se puede medir a través de los umbrales de percepción correspondientes. En la Tabla 15 se representan los umbrales de percepción olfativa (UPO) con sus descriptores sensoriales para aquellos compuestos con OAVs superiores a 1 y que por tanto contribuyen de forma activa en el aroma de los vinos.

La comparación de los vinos obtenidos mediante elaboración convencional y maceración durante 18 horas (M18), ofrece un contenido total medido de volátiles de 303,9 y 413,9 mg/L respectivamente y al compararlos con maceración durante 6 horas (M6) se obtuvieron 309,5 y 318,1 mg/L respectivamente. El vino tratado con maceración prefermentativa mostró en los dos casos mayor concentración de volátiles que los vinos control. Otros estudios realizados en distintas variedades demostraron resultados similares (Falqué & Fernández 1996; Cabaroğlu & Canbas 2002). Selli et al. (2006b) indicaron que un periodo de contacto entre los hollejos y el mosto de la variedad de uva Narince suponía un enriquecimiento en el contenido aromático de los vinos sometidos a maceración.

Tabla 14. Composición volátil de los vinos Malvasía de los dos ensayos de maceración (E1 y E2) (media \pm dv) (n=3).

Compuestos	Ensayo 1			Ensayo 2		
	C	M18	Sig. ^a	C	M6	Sig. ^a
Terpenoles ($\mu\text{g/L}$)						
β -Miraceno	1,26 \pm 0,04	1,49 \pm 0,18	Ns	1,03 \pm 0,19	0,75 \pm 0,09	*
α -Terpineno	0,22 \pm 0,01	0,17 \pm 0,01	Ns	0,13 \pm 0,04	0,12 \pm 0,03	Ns
Limoneno	0,52 \pm 0,03	0,36 \pm 0,07	Ns	0,34 \pm 0,04	0,24 \pm 0,03	*
γ -Terpineno	1,59 \pm 0,09	1,46 \pm 0,14	Ns	1,04 \pm 0,20	0,76 \pm 0,11	Ns
Linalol	78,75 \pm 2,25	98,12 \pm 11,59	*	39,77 \pm 8,67	46,83 \pm 9,30	Ns
α -Terpineol	15,42 \pm 1,38	17,37 \pm 1,96	Ns	10,83 \pm 2,43	8,83 \pm 1,94	Ns
β -Citronelol	6,07 \pm 0,45	26,54 \pm 5,31	**	2,60 \pm 0,27	4,04 \pm 0,76	*
Geraniol	9,83 \pm 0,25	16,03 \pm 3,01	*	5,60 \pm 1,15	6,00 \pm 1,05	Ns
Total terpenoles	113,66 \pm 2,48	161,55 \pm 21,53		61,35 \pm 12,13	67,57 \pm 12,17	
C13-norisoprenoides ($\mu\text{g/L}$)						
β -Damascenona	1,76 \pm 0,10	0,94 \pm 0,04	***	1,38 \pm 0,22	1,28 \pm 0,24	Ns
Total C13-norisoprenoides	1,76 \pm 0,10	0,94 \pm 0,04		1,38 \pm 0,22	1,28 \pm 0,24	
Alcoholes (mg/L)						
Isobutanol	26,81 \pm 1,12	25,81 \pm 2,94	Ns	14,66 \pm 1,33	13,92 \pm 2,03	Ns
1-Butanol	0,69 \pm 0,01	0,60 \pm 0,04	*	0,38 \pm 0,04	0,31 \pm 0,06	Ns
Alcohol isoamílico	225,17 \pm 7,34	288,80 \pm 29,51	*	212,63 \pm 8,85	213,56 \pm 25,11	Ns
1-Hexanol	1,06 \pm 0,05	0,62 \pm 0,24	*	0,65 \pm 0,02	0,84 \pm 0,08	Ns
Cis-3-hexen-1-ol	0,47 \pm 0,03	0,28 \pm 0,11	*	Tr	Tr	
Metionol	1,23 \pm 0,16	3,28 \pm 0,66	**	0,80 \pm 0,06	0,81 \pm 0,13	Ns
Alcohol bencílico	0,29 \pm 0,03	0,03 \pm 0,00	Ns	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	Ns
β -Feniletanol	33,49 \pm 5,20	75,14 \pm 26,35	*	56,30 \pm 6,99	60,55 \pm 7,36	Ns
Total alcoholes	289,20 \pm 5,06	394,56 \pm 51,10		285,42 \pm 6,51	289,99 \pm 34,74	
Lactonas (mg/L)						
γ -Butirolactona	0,49 \pm 0,10	0,91 \pm 0,14	*	1,67 \pm 0,22	2,53 \pm 0,37	*
Total lactonas	0,49 \pm 0,10	0,91 \pm 0,14		1,67 \pm 0,22	2,53 \pm 0,37	
Ácidos (mg/L)						
Ácido isobutírico	0,63 \pm 0,03	0,27 \pm 0,01	*	2,26 \pm 0,10	1,99 \pm 0,20	Ns
Ácido butírico	Tr	Tr		0,24 \pm 0,01	0,26 \pm 0,02	Ns
Ácido isovalérico	0,89 \pm 0,04	2,06 \pm 0,99	Ns	2,88 \pm 0,16	2,81 \pm 0,23	Ns
Ácido hexanoico	2,11 \pm 0,39	1,49 \pm 0,47	Ns	2,95 \pm 0,21	3,68 \pm 0,43	*
Ácido octanoico	1,85 \pm 0,30	1,27 \pm 0,25	*	4,35 \pm 0,25	6,34 \pm 0,99	*
Ácido decanoico	0,14 \pm 0,01	0,14 \pm 0,00	Ns	0,43 \pm 0,02	0,63 \pm 0,02	*
Total ácidos	5,62 \pm 0,67	5,22 \pm 0,64		13,11 \pm 0,60	15,70 \pm 1,85	
Ésteres (mg/L)						
Butirato de etilo	0,19 \pm 0,02	0,10 \pm 0,0	**	0,67 \pm 0,04	0,53 \pm 0,07	Ns
Isovalerato de etilo	0,46 \pm 0,02	0,38 \pm 0,08	Ns	0,33 \pm 0,04	0,41 \pm 0,08	Ns
Acetato de isoamilo	0,76 \pm 0,07	0,54 \pm 0,10	*	4,11 \pm 0,68	4,58 \pm 0,44	Ns
Hexanoato de etilo	0,29 \pm 0,02	0,74 \pm 0,13	*	0,40 \pm 0,04	0,47 \pm 0,06	Ns
Acetato de hexilo	0,08 \pm 0,02	0,03 \pm 0,00	*	0,10 \pm 0,01	0,12 \pm 0,02	Ns
Lactato de etilo	1,24 \pm 0,03	0,03 \pm 0,00	Ns	1,46 \pm 0,05	1,56 \pm 0,14	Ns
Octanoato de etilo	0,15 \pm 0,00	0,15 \pm 0,00	Ns	0,72 \pm 0,09	0,73 \pm 0,13	Ns
3-Hidroxi-butirato de etilo	0,11 \pm 0,01	0,17 \pm 0,03	*	0,18 \pm 0,02	0,19 \pm 0,02	Ns
Succinato de dietilo	0,24 \pm 0,05	0,18 \pm 0,00	Ns	0,11 \pm 0,01	0,08 \pm 0,02	Ns
Acetato de 2-feniletilo	1,55 \pm 0,17	1,72 \pm 0,32	Ns	0,79 \pm 0,07	0,89 \pm 0,11	Ns
Total ésteres	5,07 \pm 0,18	4,03 \pm 0,31		8,87 \pm 0,87	9,56 \pm 0,69	
Aldehídos y cetonas (mg/L)						
Diacetilo	Tr	Nd		0,32 \pm 0,02	0,23 \pm 0,02	**
Acetoina	3,42 \pm 0,20	8,73 \pm 2,03	*	Tr	Tr	
Benzaldehído	Tr	0,29 \pm 0,01	***	Tr	Tr	
Total Aldehídos y cetonas	3,42 \pm 0,20	9,02 \pm 2,03		0,32 \pm 0,02	0,23 \pm 0,02	
Total general (mg/L)	303,91 \pm 5,72	413,91 \pm 49,25		309,45 \pm 32,54	318,07 \pm 37,61	

Nd: no detectado; Tr: trazas; -: no encontrado; ^aSignificancia en que los métodos difieren: *, **, *** significación al $p < 0,05$, $p < 0,01$, $p < 0,001$ respectivamente, NS: no significativo.

Los alcoholes fueron la familia de compuestos más abundantes en las cuatro vinificaciones constituyendo más del 90% del contenido total de volátiles estudiados. Estos compuestos se forman durante la fermentación alcohólica. A concentraciones por debajo de 300 mg/L pueden contribuir a mejorar la complejidad aromática de los vinos blancos, cuando sus concentraciones superan los 400 mg/L, los alcoholes superiores son considerados como un factor negativo en cuanto a calidad aromática (Rapp &

Mandery 1986). Los alcoholes mayoritarios identificados más abundantes en los cuatro vinos fueron isobutanol, alcohol isoamílico y β -feniletanol. Cuando comparamos las muestras control con las de vinos macerados, apreciamos diferencias con significación estadística entre los compuestos mencionados en los vinos procedentes de M18. De acuerdo con el análisis de varianza, la maceración durante 6 horas no tuvo efecto sobre este grupo de volátiles. Como podemos apreciar en la Tabla 14, la maceración ha incrementado los niveles de β -feniletanol y alcohol isoamílico encontrándose ambos muy por encima de su umbral de percepción (Tabla 15), siendo significativamente superiores en los vinos M18. El β -feniletanol se forma por la acción de las levaduras durante la fermentación alcohólica a partir del aminoácido 2-fenilalanina (García et al. 2003) que se encuentra mayoritariamente en el hollejo, hecho que concuerda con nuestros resultados. El β -feniletanol está relacionado con aromas florales con atributos de rosas y se considera que contribuye de forma positiva al aroma del vino. Otro compuesto que ha aumentado significativamente con el tiempo de maceración es el metionol, siendo significativamente superior en los vinos M18 con respecto al control. El metionol está relacionado con aromas de reducción en los vinos. En la familia de los alcoholes superiores, también nos encontramos con aquellos formados por 6 átomos de carbono, los compuestos en C6, cuyos máximos representantes encontrados en los vinos Malvasía han sido 1-hexanol y cis-3-hexen-1-ol. Se aprecia una disminución significativa en los vinos de maceración larga. La maceración corta no ha tenido un efecto significativo sobre este grupo de compuestos. Proceden del metabolismo de lípidos por la actividad lipoxigenasa de la uva (B. Ferreira et al. 1995) y pueden aportar aromas herbáceos y sabor amargo en el vino, por ello, cabe destacar el hecho de que no varíen o que incluso disminuyan durante la maceración, como es el caso del cis-3-hexen-ol que sólo se encuentra por encima de su umbral de percepción (0,4 mg/L [Ferreira et al. 2000]) en el vino procedente de la primera elaboración convencional pero que tras la M18 disminuye hasta encontrarse en niveles no detectables en nariz.

La maceración pelicular durante 18 horas también resultó tener un efecto significativo en el incremento de los ésteres 3-hidroxibutirato de etilo y hexanoato de etilo, sin embargo, las concentraciones de butirato de etilo, acetato de isoamilo y acetato de hexilo disminuyeron con el tiempo de maceración. Los ésteres son un grupo de compuestos muy importantes para el aroma del vino, son generados por las levaduras durante la fermentación alcohólica y están relacionados con aromas afrutados (Etievant 1991). Debido a sus elevados OAVs (Tabla 15), butirato de etilo (manzana), isovalerato de etilo (naranja), acetato de isoamilo (plátano), hexanoato de etilo (manzana verde) y acetato de 2-feniletilo (flores), deben ser considerados como importantes contribuidores al aroma típico de los vinos Malvasía. En el caso de la M6 no se encontraron diferencias sobre ninguno de los ésteres estudiados por lo que podemos concluir que la maceración durante un periodo de tiempo más reducido no ha afectado al contenido en ésteres de los vinos resultantes.

Ocho terpenos fueron identificados en los vinos, entre ellos, linalol, β -citronelol y geraniol aumentaron significativamente con M18 mientras que con M6 solo el β -citronelol experimentó un incremento significativo. El geraniol se encuentra en un 90% en los hollejos, mientras que el linalol está repartido al

50% entre el hollejo y el mosto (Gunata et al. 1985; Wilson et al. 1986). D'Onofrio et al. (2016) informaron sobre altas concentraciones de geraniol y sus derivados a lo largo de la maduración en uvas de Malvasía. El tratamiento con maceración aumentó los niveles de algunos terpenos y otros permanecieron estables pero sólo el linalol alcanzó concentraciones por encima de su umbral de percepción en todos los vinos siendo la mayor extracción significativa en los vinos macerados durante 18 horas. Este terpeno es capaz de aportar al vino notas florales y cítricas (Tabla 15) propias de los aromas Moscatel ya que es uno de los principales compuestos responsables de los aromas típicos de esta variedad (Marais 1983). Se encuentra localizado principalmente en el hollejo de las uvas (Günata et al. 1985). Resultados similares fueron encontrados por otros autores en vinos de variedades blancas para esta familia de compuestos (Cabaroğlu et al. 1997; Selli et al. 2006b).

La β -damascenona fue el único compuesto de la familia de los C13-norisoprenoides encontrado en los vinos de Malvasía. La concentración de este compuesto disminuye con la maceración, mostrándose un descenso significativo en el vino que fue sometido a más horas de contacto entre hollejos y mosto (M18). Los C13-norisoprenoides proceden de la degradación de carotenoides y de la hidrólisis de sus formas glicosiladas. En vinos jóvenes suelen estar presentes en forma de glicoconjugados, es por eso que es más difícil encontrarlos en su forma libre (Schneider et al. 2001; Baumes et al. 2002). De acuerdo con los OAVs, en todos los casos la β -damascenona se encuentra por encima de su umbral de percepción por lo que debe considerarse como un compuesto importante en el aroma de los vinos Malvasía (Tabla 15) aportándoles aromas florales con atributos de lilas (Yuan & Qian 2016). En la literatura otros autores coinciden con estos resultados para esta variedad (Cámara et al. 2004).

Como muestra la Tabla 14, los ácidos grasos más abundantes en los vinos fueron el ácido hexanoico y ácido octanoico. Estos resultados concuerdan por los encontrados por otros autores (Falqué et al. 2001; Selli et al. 2004; Chacon et al. 2009). La maceración parece tener distintos efectos según el compuesto y el tiempo empleado, así, en el caso de los vinos M18, la concentración total de ácidos grasos disminuye, siendo este descenso especialmente significativo en el ácido octanoico. En los vinos macerados durante 6 horas la concentración total de ácidos grasos se ve incrementada significativamente en el caso del ácido hexanoico, octanoico y decanoico. En todos los vinos, independientemente del incremento o descenso producido como consecuencia de la maceración, el ácido isovaleriánico, hexanoico y octanoico presentan OAVs >1 por lo que han de ser considerados en el aroma de estos vinos (Tabla 15).

Tabla 15. Valores de actividad olfativa (OAV) de los compuestos volátiles con más influencia en el aroma de los vinos obtenidos de Malvasía procedentes de dos ensayos de maceración (E1: C-M18; E2: C-M6)

Compuestos	Descriptor sensorial	UPO*	OAV E1		OAV E2	
			C	M18	C	M6
Linalol	Floral, cítrico	25 ^b	3,15	3,92	1,59	1,87
β-damascenona	Floral, lilas	0,05 ^a	35,20	18,70	27,50	25,60
Alcohol isoamílico	Amargo, áspero	30 ^b	7,50	9,63	7,09	7,12
Cis-3-hexen-1-ol	Vegetal, herbáceo	0,4 ^b	1,10			
Metionol	Cebolla, coliflor	1 ^b	1,20	3,30		
β-feniletanol	Rosas	14 ^b	2,40	5,30	4,02	4,32
Ácido butírico	Queso	0,17 ^b				1,50
Ácido isovalerianico	Queso azul	0,03 ^b	29,60	68,60	96,00	93,60
Ácido hexanoico	Queso	0,42 ^b	5,0	3,5	7,0	8,8
Ácido octanoico	Mantequilla, agrio	0,50 ^b	3,70	2,50	8,70	12,70
Butirato de etilo	Fruta ácida, manzana	0,02 ^b	9,47	1,90	33,57	26,62
Isovalerato de etilo	Fruta dulce, naranja, mora	0,003 ^b	152,11	127,01	109,63	135,77
Acetato de isoamilo	Plátano	0,03 ^b	25,46	18,00	136,85	152,58
Hexanoato de etilo	Fruta, manzana verde	0,01 ^b	29,37	73,71	39,67	46,91
Octanoato de etilo	Fruta, manzana	0,58 ^c			1,24	1,25
Acetato de 2-feniletilo	Agradable, floral, miel	0,25 ^b	6,20	6,89	3,18	3,58
Diacetilo	Mantequilla	0,10 ^a			3,18	2,26

*UPO: umbral de percepción olfativa en vino. Los UPO y OAVs se dan en mg/L excepto terpenos que se dan µg/L. Los descriptores aromáticos junto con los umbrales se encontraron en la literatura: ^a(Guth 1997); ^b(Ferreira et al. 2002); (Etievant 1991).

Con respecto al grupo de aldehídos y cetonas, es sabido que alteraciones debidas a procesos de oxidación, implican entre otros cambios, la aparición de aromas desagradables (verdura cocida o pienso) relacionados con la presencia de compuestos tales como benzaldehído, acetoina, hexanal, metional etc. (Escudero et al. 2000). Acetoina y benzaldehído fueron detectados en los vinos control y los macerados 18 horas, produciéndose un incremento significativo de ambos con el proceso de maceración ($p < 0,05$ y $p < 0,001$ respectivamente). Según un estudio de Herraiz et al. (1991) sobre la variedad de uva Verdejo, la presencia de acetoina en vinos blancos es considerada como negativa para el aroma. En ambos casos, las concentraciones de acetoina y benzaldehído se encuentran muy por debajo de su umbral de percepción (150 mg/L [Ferreira et al. 2000] y 5 mg/L [Zea et al. 2010]).

La γ-butirolactona fue la lactona predominante identificada en todos los vinos. Las dos maceraciones incrementaron significativamente la concentración de este compuesto pero en todos los casos quedó muy lejos de su UPO (35 mg/L [Aznar et al. 2003]).

De acuerdo con los resultados que reflejan las Tablas 14 y 15, existen algunos puntos a destacar en cuanto a la influencia de la maceración sobre el perfil aromático de los vinos de Malvasía:

- ✓ Maceraciones largas ayudan a potenciar el carácter floral que aportan los terpenos contenidos en el hollejo, especialmente el linalol. La maceración corta no causa efecto significativo en el contenido de este compuesto aunque se aprecia cierta tendencia hacia el incremento.
- ✓ La β -damascenona permanece constante durante el periodo de maceración corta, sin embargo, con la maceración larga desciende significativamente.
- ✓ La maceración no ha tenido un efecto significativo sobre el aporte de compuestos relacionados con aromas herbáceos. La M18 ha ayudado a reducir el contenido de 1-hexanol y cis-3-hexen-1-ol.
- ✓ La concentración de β -feniletanol, relacionado con aroma de carácter floral, aumenta significativamente con una maceración prolongada pero también lo hacen el alcohol isoamílico y el metionol relacionados con aromas de reducción y sabor amargo en los vinos.
- ✓ La maceración larga parece reducir el contenido en ácidos grasos que pueden aportar aromas rancios al vino, especialmente el ácido octanoico.
- ✓ La maceración corta no tuvo efectos significativos sobre el contenido en ésteres. La maceración larga favorece la ganancia de algunos ésteres (3-hidroxi-butarato de etilo, hexanoato de etilo y acetato de 2-feniletilo) y la pérdida de otros (acetato de isoamilo, isovalerato de etilo y butirato de etilo), todos ellos relacionados con el carácter afrutado.
- ✓ Los vinos procedentes de M18 se muestran sensibles a fenómenos de oxidación.

Una vez analizado el efecto de la maceración pelicular sobre los compuestos aromáticos, se ha visto conveniente realizar un análisis estadístico multivariante al conjunto de variables estudiadas en los vinos, tanto a las fisicoquímicas como a los compuestos aromáticos principales para cada ensayo de maceración. En concreto se realizó un análisis de componentes principales (ACP), con el fin de agrupar variables, altamente correlacionadas entre sí o que presentan un comportamiento similar con el tiempo de maceración, en unos factores que explican una alta proporción de la varianza total de los datos.

El ACP del primer ensayo de maceración (M18) aplicado a 16 variables (4 variables fisicoquímicas generales y 12 variables aromáticas [OAV>1, Tabla 15]) conduce a la extracción de 2 factores (Tabla 16) que explican el 71% de la varianza total de los datos. El factor 1 (F1), con un 46,6% de la varianza explicada, agrupa las variables relacionadas con los dos métodos de elaboración, de forma que encontramos variables que **umentan** (signo -) y **disminuyen** (signo +) con el tiempo de maceración. Entre las variables que disminuyen con la maceración que corresponden al factor 1 destacan compuestos relacionados con aromas desagradables como los ácidos hexanoico y octanoico y el cis-3-hexen-1-ol relacionado con aromas vegetales. Lo contrario ocurre en el caso del linalol (confiere atributos florales) ácido isovalerianico y metionol (relacionadas con aromas de reducción), también variables representadas en el factor 1, que aumentan con el tiempo de maceración. En cuanto a los parámetros generales que explican el componente 1 se observa cómo el pH, la acidez volátil y acidez titulable han ido disminuyendo

con la maceración pelicular. Por otro lado el factor 2 (F2) que explica el 24,6% de la varianza también agrupa variables negativas que **aumentan** con el tiempo de maceración y pueden ser consideradas como positivas para la calidad del vino (β -feniletanol y hexanoato de etilo). El grado alcohólico, al igual que el resto de parámetros generales analizados, también disminuye con el tiempo de maceración.

Tabla 16. Resultados del Análisis Componentes Principales para los vinos Malvasía procedentes del primer ensayo de maceración (C-M18) (cargas factoriales > 0,50000; Factores 1 y 2).

Variables	F1	F2
pH	0,640	0,120
Acidez titulable	0,651	0,526
Acidez volátil	0,634	0,560
Grado alcohólico	-0,247	0,953
Linalol	-0,682	-0,637
β -Damascenona	0,551	0,658
Ácido octanoico	0,904	0,166
Ácido hexanoico	0,813	0,033
Ácido isovalerianico	-0,905	-0,393
Metionol	-0,730	-0,586
β -Feniletanol	-0,147	-0,784
Hexanoato de etilo	-0,675	-0,693
Butirato de etilo	0,690	0,325
Alcohol isoamílico	-0,333	-0,376
Isovalerato de etilo	0,833	-0,028
Cis-3-hexen-1-ol	0,908	0,414

Con respecto al segundo ensayo de maceración (M6), el análisis de componentes principales aplicado a 17 variables (4 variables fisicoquímicas generales y 13 variables aromáticas [OAV > 1, Tabla 15]) conduce a la extracción de 3 factores (Tabla 17) que explican el 77,4% de la varianza total de los resultados. Al igual que en el primer ensayo, el primer factor explica la mayor proporción de la varianza, 34,8%, mientras que el factor 2 explica el 23,2% y el 3 con una 19,4 %. En este ensayo las variables que explican cada componente están más repartidas agrupándose según **aumentan** (+) o **disminuyen** (-) con el tiempo de maceración. Entre las variables del primer factor relacionadas con la maceración encontramos los ácidos hexanoico y octanoico (aromas rancios) que, al contrario que ocurría con la maceración larga, en este ensayo aumentan su concentración con un periodo de contacto corto. Es importante destacar la reducción del diacetilo con el tiempo de maceración, compuesto al que se le atribuyen aromas lácticos y rancios. También destacan los parámetros generales de pH y grado alcohólico, al igual que ocurría en el primer ensayo, disminuyen con el tiempo de maceración. El factor 2 viene determinado por ácido isovalerianico, butirato de etilo y alcohol isoamílico. En cuanto al factor 3 se encuentra representado por compuestos relacionados con aromas de calidad como son el hexanoato de etilo, octanoato de etilo, linalol y β -damascenona que como vimos en la Tabla 14 aumentaban o no variaban con la maceración.

Tabla 17. Resultados del Análisis Componentes Principales para los vinos Malvasía procedentes del segundo ensayo de maceración (C-M6) (cargas factoriales > 0,50000; Factores 1,2 y 3).

Variables	F1	F2	F3
pH	-0,899	-0,164	-0,244
Acidez titulable	0,658	-0,157	0,389
Acidez volátil	-0,341	0,018	-0,333
Grado alcohólico	-0,972	-0,042	-0,213
Linalol	0,222	-0,060	0,915
β -Damascenona	-0,462	-0,232	0,837
Ácido octanoico	0,894	0,327	-0,076
Ácido hexanoico	0,830	0,356	-0,017
Ácido isovalerianico	-0,250	0,626	-0,091
Diacetilo	-0,947	0,019	-0,081
β -Feniletanol	0,386	0,288	-0,087
Hexanoato de etilo	0,438	0,558	0,695
Butirato de etilo	-0,045	0,934	-0,127
Alcohol isoamílico	0,138	0,812	-0,531
Isovalerato de etilo	0,727	0,512	-0,303
Octanoato de etilo	0,206	0,007	0,851

VII.2.1.4. Influencia sobre las características sensoriales de los vinos

Aunque el análisis de la composición aromática de los vinos nos da una idea aproximada de las características organolépticas de los mismos, el análisis sensorial es una herramienta imprescindible para evaluar la calidad de un vino, ya que no sólo nos proporciona información sobre las características aromáticas si no que también nos permite evaluar otros aspectos fundamentales como el visual y gustativo. De acuerdo con Cacho (2003) la cata es el único test universal fiable para establecer las características sensoriales del vino. Se llevaron a cabo catas descriptivas para evaluar y detallar los atributos sensoriales que caracterizaban cada vino y catas triangulares con el objetivo de establecer diferencias entre los distintos métodos de elaboración (el análisis sensorial descriptivo y triangular se detalla en el apartado VI.5 de materiales y métodos).

El análisis descriptivo se realizó en tres fases para cada ensayo (ensayo 1: M18-C); ensayo 2: M6-C) ya que los vinos pertenecían a dos vinificaciones distintas, así los vinos control C (convencionales) también eran distintos entre sí. Se tuvo en cuenta el aspecto visual, olfativo y gustativo siguiendo la ficha de cata elaborada en el laboratorio de Enología del IMIDRA, representándose en forma de diagrama de araña las intensidades medias otorgadas por los jueces para cada descriptor. También se hizo un tratamiento estadístico de los datos (análisis de varianza más test de Tukey con niveles de significación de $p < 0,001$ [muy significativa], $p < 0,01$ [significativa] y $p < 0,05$ [poco significativa]) para establecer diferencias significativas entre los distintos métodos de elaboración.

Respecto a la fase visual, Figuras 50A y 50B, observamos cómo la maceración corta no tuvo efecto sobre ninguno de los tres parámetros estudiados, sin embargo, el vino elaborado con maceración durante 18 horas fue puntuado con otro tono de “color” y mayor “intensidad de color”, siendo el último atributo

significativamente superior con respecto al vino convencional ($p < 0,01$). El atributo de “color” se determinó atendiendo al tono coloreado adquirido por el vino recibiendo puntuaciones de 1 a 3 en función de si éste era verdoso, amarillento ó dorado respectivamente.

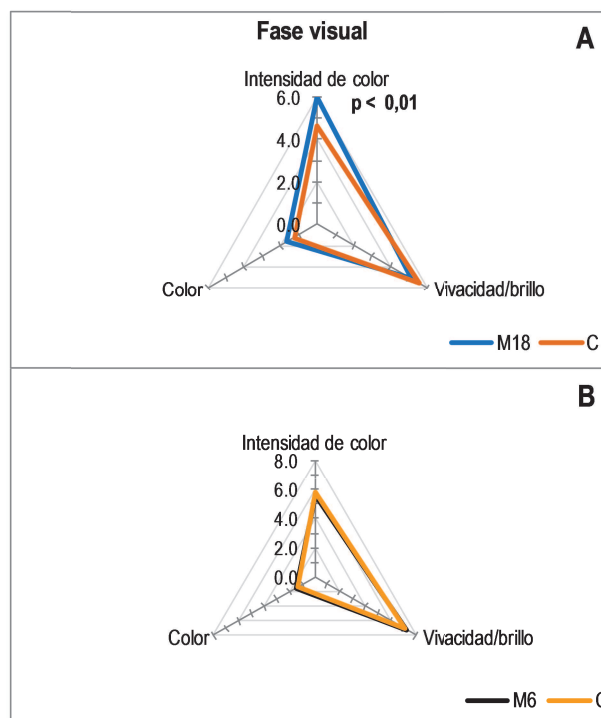


Figura 50. A) Fase visual de los vinos Malvasía del ensayo 1: maceración durante 18 h (M18) y sin maceración (C); B) Fase visual de los vinos Malvasía del ensayo 2: maceración durante 6 h (M6) y sin maceración (C).

En las Figuras 51A y 51B aparecen representadas las puntuaciones medias concedidas por el comité de cata para los diferentes atributos olfativos evaluados para cada vino Malvasía elaborado de manera convencional (C) y los sometidos a maceración prefermentativa en frío durante 18 horas (M18) y 6 horas (M6). Se analizaron 9 descriptores sensoriales. El vino macerado (Figura 51A) durante más tiempo (18 horas) recibió mayor puntuación en los descriptores de “aromas de alteración”. Este hecho, probablemente debido a problemas en el proceso de conservación del vino M18, concuerda con los comentarios de los catadores donde reflejaban aromas de oxidación en la muestra de maceración con un nivel de significación de $p < 0,001$. Así, el vino procedente de elaboración convencional fue puntuado favorablemente en cuanto a “calidad global del aroma” y el carácter “afrutado” ($p < 0,01$), sin embargo, un aspecto relevante de los resultados de este análisis fue que a pesar de los defectos ya mencionados, el vino de maceración recibió la mayor puntuación con respecto al carácter “floral” siendo significativamente superior al vino convencional lo cual concuerda con los resultados obtenidos en el perfil aromático de dichos vinos.

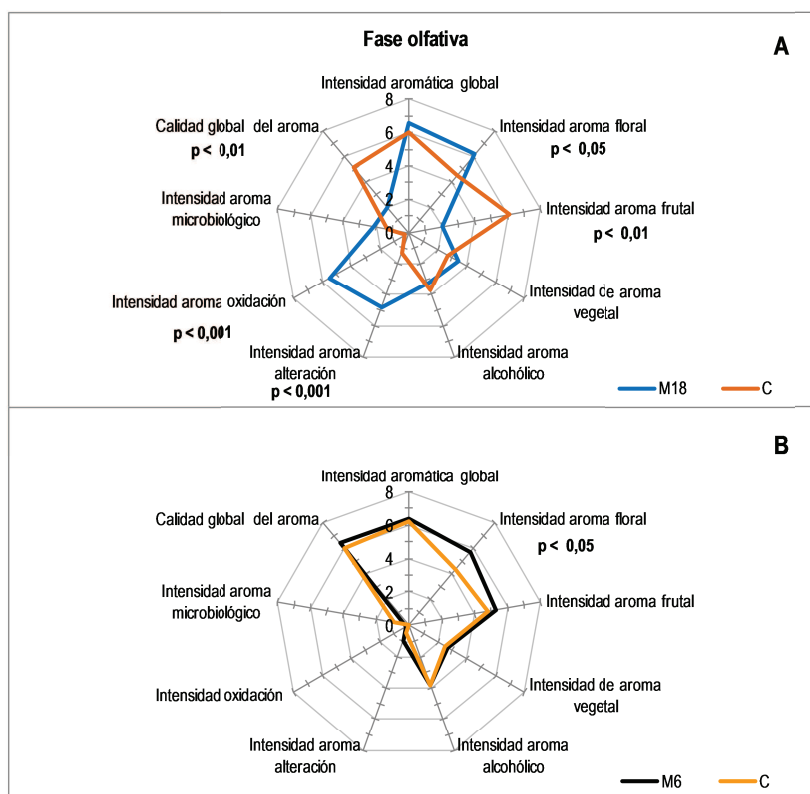


Figura 51. Fase olfativa del análisis sensorial de los vinos Malvasia del ensayo 1 (A) y del ensayo 2 (B).

Como se puede observar en la Figura 51B, los vinos sometidos a M6 obtienen mejores puntuaciones en cuanto a “intensidad aromática frutal” y “floral”, siendo este último atributo donde se apreciaron las mayores diferencias ($p < 0,05$). El resto de parámetros obtuvieron puntuaciones similares para los dos tipos de elaboración.

Paralelamente se determinaron las características gustativas de los cuatro vinos elaborados mediante la ficha citada anteriormente. En las Figuras 52A y 52B se muestran los diagramas de araña con las puntuaciones medias recibidas por los vinos con distintos métodos de elaboración.

Los resultados de la evaluación gustativa del vino M18 en comparación con el convencional (Figura 52A), muestran diferencias significativas en favor del vino C en los parámetros de “calidad global del gusto” ($p < 0,001$), “amargor” ($p < 0,01$) “carácter afrutado” ($p < 0,01$) lo cual podría relacionarse una vez más con el proceso de oxidación sufrido por el vino macerado durante su conservación.

Con respecto a la evaluación del vino M6 (Figura 52B), los resultados indican un aumento significativo ($p < 0,01$) del carácter afrutado con respecto al C, hecho que puede estar relacionado con la liberación de aromas varietales mediante la hidrólisis de precursores aromáticos por la actividad enzimática durante el periodo de conservación en botella. También aumentaron los parámetros de “acidez” y “calidad global del gusto” pero sin apreciarse diferencias notables.

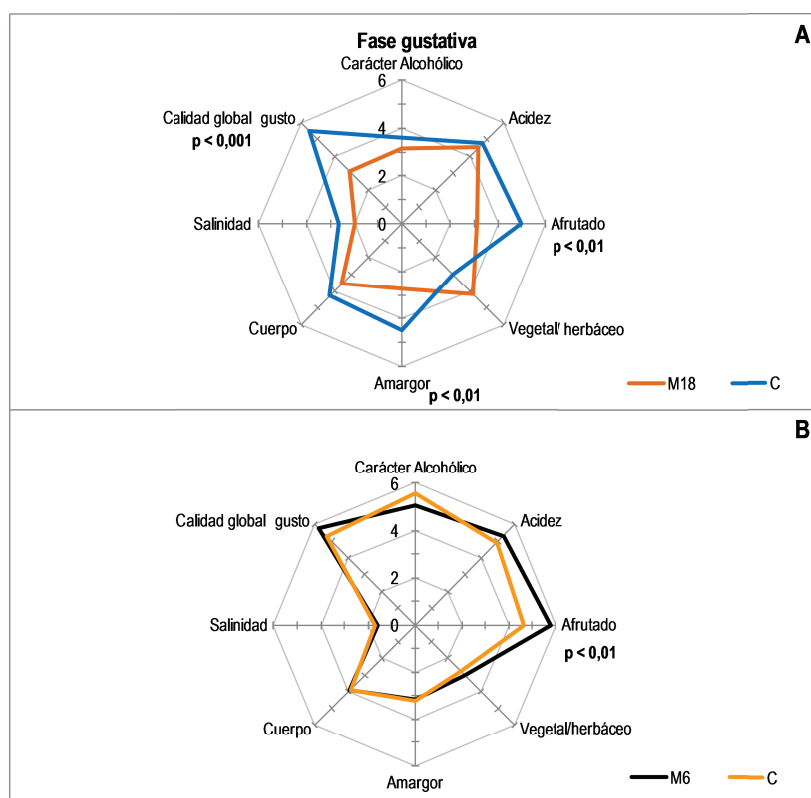


Figura 52. Fase gustativa del análisis sensorial de los vinos Malvasía del ensayo 1 (A) y del ensayo 2 (B).

También se realizaron pruebas discriminatorias triangulares para cada método de elaboración con su contrario, así, se establecieron cuatro pruebas triangulares para los vinos M18 frente a su control otras cuatro para comparar el M6 y su correspondiente control. La razón por la que no se realizaron pruebas triangulares para diferenciar entre los 4 vinos (M18, M6 y los 2 controles) es debido a que pertenecían a distintas vinificaciones.

De acuerdo con las tablas de interpretación de datos descritas en la norma ISO 4120:2007, los resultados derivados de la primera cata triangular en la que se enfrentaron los vinos M18 y su control (C) mostraron que los 8 jueces que participaron en la prueba diferenciaron estadísticamente los vinos procedentes de la elaboración convencional de los de maceración prefermentativa, mostrando niveles de significación del 0,1%, influido posiblemente por la presencia de ligeros defectos, anteriormente descritos, en la muestra de maceración. La segunda cata triangular, en la que se presentaron los vinos M6 y su control C, no mostró significación estadística en el nivel de aciertos, los jueces no diferenciaron los vinos procedentes de las dos elaboraciones.

En cuanto a la preferencia de los catadores en las pruebas triangulares, es significativa la preferencia por los vinos macerados durante 6 horas frente a los de elaboración convencional, ya que del 50% de aciertos en las cuatro pruebas presentadas, el 75% de los catadores prefirieron el vino macerado y el 25% restante se decantó por el vino convencional. Por otro lado, aunque la prueba triangular de distinción realizada entre los vinos M18 y C mostró el 100% de aciertos entre los catadores, las preferencias estuvieron muy repartidas, el 56% prefería el vino procedente de maceración y el 43% eligió el

convencional. Como ya se ha descrito, el vino M18 presentó notas de oxidación, que lo hicieron más fácilmente reconocible, y mayor carácter floral, que determinó la preferencia por la mayoría de los jueces

En general, los resultados del análisis sensorial muestran preferencia por los vinos macerados durante 6 horas. Los vinos macerados 18 horas destacaron por su carácter floral pero se vieron afectados por fenómenos de oxidación durante su conservación.

VII.2.2. Empleo de cepas de levaduras autóctonas

VII.2.2.1. Influencia de la cepa de levadura sobre el desarrollo de la fermentación alcohólica

Se realizaron unos experimentos previos de microfermentaciones en el laboratorio, siguiendo el método descrito en el apartado VI.4.4 de materiales y métodos, para comprobar si el desarrollo de la cinética fermentativa de las cepas de levaduras seleccionadas en el ensayo era correcto para los mostos de la variedad Malvasía (Figura 93 del Anexo 4 “Gráfica de seguimiento de las microvinificaciones en el laboratorio”). Tras comprobar que las fermentaciones con las cepas de levaduras y mostos elegidos habían llegado a buen término procedió a realizar el mismo ensayo a escala bodega como se detalla en el apartado VI.3.4 de materiales y métodos.

Después de las correspondientes operaciones en bodega para la obtención de mostos de Malvasía elaborados con maceración prefermentativa durante 18 horas (apartado VI.3.3.2), se procedió a la división del mismo en 7 fracciones cada una de las cuales fue inoculada con los distintos preparados de levaduras: dos cepas autóctonas de la Colección de Levaduras del IMIDRA (CLI) aisladas de mostos de la D.O. “Vinos de Madrid” (CLI 889 y CLI 271) y una comercial (LSA), todas ellas del género *Saccharomyces cerevisiae* y previamente descritas en el apartado VI.3.4 de materiales y métodos. De los 7 depósitos 3 fueron inoculados con la cepa CLI 271, otros 3 con la CLI 889 y uno con LSA.

Anterior a la siembra de las levaduras se realizaron análisis para conocer los parámetros generales del mosto de partida sin haber realizado las correspondientes correcciones de pH y acidez titulable (Tabla 18).

Tabla 18. Análisis general del mosto Malvasía (MVS) tras maceración prefermentativa durante 18 horas antes de ser inoculado con las distintas cepas de levaduras (media \pm dv) (n=2).

MOSTO MVS		
°Brix	21,4	\pm 0,0
pH	3,32	\pm 0,0
Acidez titulable (g/L ác. tartárico)	5,4	\pm 0,1
NFA (mg/L)	164,0	\pm 9,9

De acuerdo con la literatura, los resultados indican que el contenido total de nitrógeno fácilmente asimilable en el mosto de partida se encuentra en niveles superiores al mínimo recomendado para el

correcto crecimiento y actividad de las levaduras durante la fermentación (130-140 mg/L), (Hernandez Orte et al. 1998).

A lo largo de las fermentaciones, se realizó un seguimiento de la cinética fermentativa de cada una de las cepas, controlando la densidad del mosto. En la Figura 53 se representan las medias de las 3 fermentaciones con la cepa 271 y 889 junto con la LSA. Observamos cómo las como las tres cepas de levadura mostraron un correcto inicio, desarrollo y acabado de la fermentación apareciendo ligeras diferencias en el mosto inoculado con la cepa CLI 889 donde se aprecia un arranque algo más lento con respecto a los mostos inoculados con las cepas CLI 271 y LSA que exhiben una cinética casi idéntica durante la fermentación. Las fermentaciones duraron aproximadamente 19 días para todos los depósitos y terminaron correctamente sin problemas de paradas dejando valores de azúcares residuales en todos los casos < 4 g/L (Tabla 19), límite establecido para vinos tranquilos secos (Reglamento CEE 997/81).

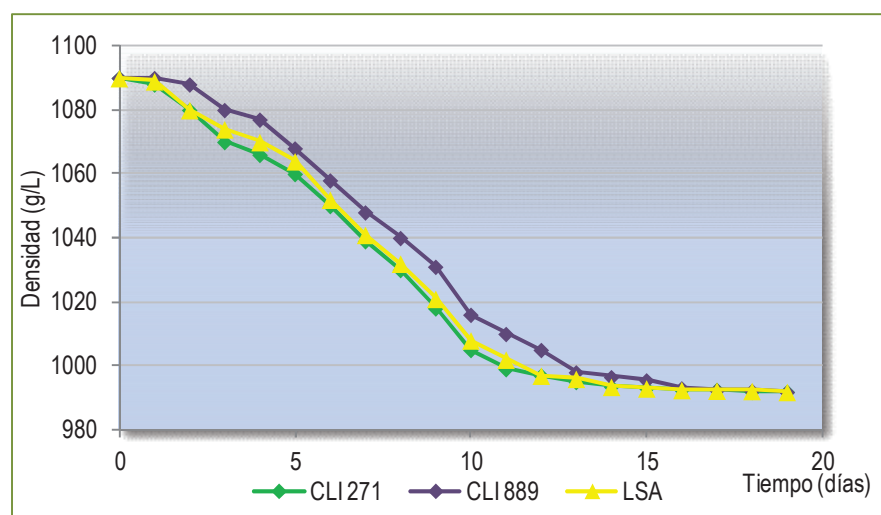


Figura 53. Influencia de la cepa de levadura sobre la cinética fermentativa de mostos Malvasía.

VII.2.2.2. Influencia sobre las características generales de los vinos

Con las fermentaciones acabadas, los vinos fueron estabilizados por frío y se realizó el correspondiente análisis de parámetros físico químicos de los mismos (Tabla 19) para determinar la influencia de las cepas de levaduras en las características finales. Se comprobó que los parámetros enológicos estaban dentro de los límites legales establecidos para vinos blancos tranquilos por la reglamentación europea aplicable: acidez titulable $> 4,5$ g/L (CEE 557/94), acidez volátil $< 1,08$ (CE 1493/99), pH 2,8 - 3,4, grado alcohólico $> 9 - < 15$ (CEE 2676/90) y niveles de SO_2 total < 210 mg/L (CE 1493/99).

Tabla 19. Parámetros generales de los vinos Malvasía elaborados con distintas cepas de levadura al finalizar la fermentación.

Depósito	Densidad (g/L a 20 °C)	Grado alcohólico (% v/v)	pH	Acidez titulable (g/L ác. tartárico)	Acidez volátil (mg/L)	Azúcares residuales (g/L)	Ácido málico (g/L)	SO ₂ libre (mg/L)	SO ₂ total (mg/L)
CLI 271_1	992	13,0	3,03	6,5	0,3	1,3	1,0	10	55
CLI 271_2	992	12,9	3,06	6,4	0,4	1,6	0,9	8	56
CLI 271_3	993	12,0	3,10	5,7	0,3	1,6	0,9	8	58
CLI 889_1	992	13,5	3,01	6,5	0,4	1,7	1,0	8	58
CLI 889_2	992	13,4	3,02	7,1	0,4	1,7	1,0	8	58
CLI 889_3	992	13,3	3,05	6,9	0,3	1,8	1,0	8	63
LSA	992	13,1	3,02	6,6	0,5	1,6	0,9	11	57

Como se puede observar, los vinos presentaron características analíticas muy parecidas, encontrándose las mayores diferencias en los parámetros de acidez volátil donde las cepas CLI 271 y CLI 889 tuvieron niveles más bajos con respecto a la LSA, lo cual resulta interesante desde el punto de vista enológico puesto que parecen capaces de realizar una fermentación eficiente con niveles de ácido acético más bajos que la levadura comercial en mostos de Malvasía. También cabe destacar el mayor rendimiento estequiométrico alcohólico de la cepa CLI 889 que condujo a la obtención de mayores niveles de grado alcohólico frente a la levadura comercial LSA.

VII.2.2.3. Influencia sobre la composición aromática de los vinos

Se llevó a cabo un análisis de compuestos volátiles mayoritarios y varietales de los vinos elaborados en la bodega experimental. La Tabla 20 muestra las concentraciones de compuestos volátiles varietales liberados y la Tabla 21 contiene los aromas mayoritarios generados durante la fermentación. Todos ellos se presentan junto con sus valores de umbral de percepción olfativa en vino.

Tabla 20. Concentración (µg/L) de compuestos aromáticos varietales en los vinos elaborados con las cepas CLI 271, CLI 889 y LSA.

	UPO (µg/L)	Ref.*	CLI 271_1	CLI 271_2	CLI 271_3	CLI 889_1	CLI 889_2	CLI 889_3	LSA
Compuestos									
β-Mirceno	-		1,31	1,11	0,98	1,32	1,47	1,65	1,51
α-Terpineno	-		0,18	0,17	0,15	0,16	0,16	0,19	0,21
Limoneno	15	c	0,43	0,43	0,31	0,36	0,43	0,47	0,49
γ-Terpineno	-		1,31	1,12	1,02	1,31	1,49	1,58	1,63
Linalol	25	b	78,69	67,92	55,99	66,21	75,34	81,31	77,01
α-Terpineol	250	b	24,81	19,92	15,98	14,8	17,77	20,03	18,01
β-Citronelol	100	a	10,40	14,41	11,77	17,35	18,1	20,82	16,11
Geraniol	30	c	19,35	17,74	16,04	19,13	21,01	24,74	22,80
β-Damascenona	0,05	a	1,02	1,01	1,15	1,33	1,24	1,09	1,39

*Referencias bibliográficas: a: (Guth 1997), b: (Ferreira et al. 2000), c: (Etievant 1991).

Tabla 21. Concentración (mg/L) de compuestos aromáticos mayoritarios en los vinos elaborados con las cepas CLI 271, CLI 889 y LSA.

	UPO (mg/L)	Ref.*	CLI 271_1	CLI 271_2	CLI 271_3	CLI 889_1	CLI 889_2	CLI 889_3	LSA
Compuestos									
Diacetilo	0,10	a	0,18	0,12	0,15	0,11	0,16	0,26	0,37
Butirato de etilo	0,02	b	0,33	0,31	0,26	0,38	0,28	0,32	0,40
Isobutanol	40	b	35,00	40,71	25,51	40,69	35,55	43,89	35,35
Acetato de isoamilo	0,03	b	2,45	3,44	2,61	1,47	1,21	1,20	1,81
1-Butanol	150	c	0,96	1,08	0,85	0,32	0,36	0,36	0,32
Alcohol isoamílico	30	b	282,39	360,53	212,75	307,53	314,61	325,45	224,05
Hexanoato de etilo	0,01	b	0,65	0,66	0,66	0,60	0,43	0,48	0,62
Acetato de hexilo	1	f	0,13	0,15	0,16	0,13	0,10	0,10	0,14
Acetoína	150	c	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr
Lactato de etilo	154	c	3,98	3,32	2,74	4,58	3,76	3,13	2,73
1-Hexanol	8	b	1,64	1,55	1,21	1,82	1,50	1,63	1,53
Cis-3-hexen-1-ol	0,4	b	0,02	0,02	0,02	0,03	0,02	0,03	0,02
Octanoato de etilo	0,58	c	0,68	0,75	0,72	0,64	0,46	0,51	0,64
3-Hidroxi-butarato de etilo	20	d	0,10	0,14	0,12	0,26	0,22	0,14	0,13
Metionol	1	b	1,68	1,20	1,20	0,53	0,58	0,59	0,57
β-Feniletanol	14	b	56,46	55,16	45,63	35,16	33,46	35,15	38,15
γ-Butirolactona	35	d	4,79	4,00	5,76	7,65	6,64	7,15	8,95
Ácido isobutírico	2,30	e	1,85	1,58	0,98	1,95	1,79	1,44	1,85
Ácido butírico	0,17	b	0,60	0,45	0,60	0,76	0,67	0,57	0,87
Ácido isovalerianico	0,03	b	3,08	3,09	2,12	2,62	2,47	2,14	2,11
Ácido hexanoico	0,42	b	2,82	3,40	3,08	3,12	2,29	2,34	2,51
Ácido octanoico	0,50	b	2,87	3,49	3,66	3,07	2,38	2,36	2,63
Ácido decanoico	1	b	0,20	0,19	0,28	0,16	0,24	0,20	0,33
Isovalerato de etilo	0,003	b	0,28	0,16	0,18	0,16	0,16	0,14	0,22
Succinato de dietilo	1,20	b	0,00	0,00	0,00	0,17	0,15	0,19	0,10
Acetato de 2-feniletilo	0,25	b	0,41	0,65	0,51	0,21	0,18	0,16	0,27

Tr: trazas; *Referencias bibliográficas: a: (Guth 1997), b: (Ferreira et al. 2000), c: (Etievant 1991), d: (Aznar et al. 2003), e: (Nettenbreijer & Gemert 1977), f: (Chaves et al. 2007).

Además, los compuestos se han agrupado en familias químicas (Tabla 22) para determinar el impacto de cada una de ellas en el vino y ver si había diferencias entre las distintas cepas empleadas para realizar las vinificaciones. La contribución total de cada familia se puede observar en la Figura 54; se muestra la familia de los alcoholes superiores como los compuestos más contribuyentes al aroma desde el punto de vista cuantitativo, con valores de más del 90% en los tres casos. Estos resultados concuerdan con estudios previos realizados para la variedad Malvar y Palomino fino con las mismas cepas de levaduras (Balboa-Lagunero et al. 2013; Cordero-Bueso et al. 2016).

En general se aprecia que la contribución por familias es muy parecida en los vinos elaborados con las cepas CLI 271 y CLI 889. Los vinos de la cepa LSA poseen un porcentaje de alcoholes ligeramente inferior, lo cual aumentó el porcentaje de lactonas, ácidos y terpenos.

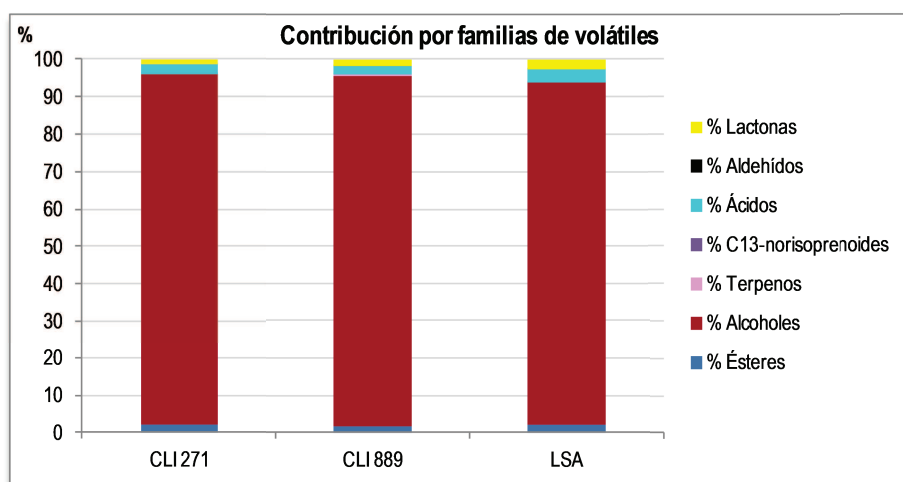


Figura 54. Contribución (%) de cada familia de compuestos volátiles al total en los vinos. (Datos medios de las repeticiones de los depósitos).

En la comparativa del total de volátiles obtenidos en las tres vinificaciones, el vino elaborado con la cepa CLI 889 mostró mayor concentración de volátiles totales (418,41 mg/L) que los elaborados con las cepas CLI 271 y LSA (400,78 mg/L y 326,94 mg/L respectivamente).

Para cada familia de compuestos, existían diferencias significativas en algunos compuestos dependiendo de la cepa de levadura empleada. Los alcoholes fueron el grupo de volátiles más abundante. Estos compuestos están directamente relacionados con el metabolismo de las levaduras (Suárez Lepe 1997) y generalmente están asociados a aromas desagradables en los vinos (Carrascosa et al. 2012); pero la mayoría suelen estar por debajo de su umbral de percepción olfativa teniendo así más importancia por ser precursores de algunos ésteres que sí van a contribuir de forma positiva en el aroma del vino teniendo un gran impacto sensorial en el mismo (Callejon et al. 2010). En los vinos elaborados con las tres cepas de levaduras, el contenido total de alcoholes estuvo por debajo de los 400 mg/L, por lo que no se considera un factor negativo para la calidad aromática (Rapp & Mandery 1986; Rapp & Versini 1995). Cabe destacar que las concentraciones totales de alcoholes superiores oscilan entre los 299 mg/L en el vino procedente de LSA hasta los 393 mg/L en el vino elaborado con la cepa CLI 889, debido principalmente al alcohol isoamílico que en todos los casos supone más del 70% de la concentración total de alcoholes; junto con el β -feniletanol también son los únicos alcoholes que se encuentran por encima del umbral de percepción en todos los vinos. Isobutanol y metionol también parecen contribuir al aroma de los vinos fermentados con CLI 271 y CLI 889 respectivamente. Los valores del resto de los compuestos estuvieron por debajo de sus umbrales de olfacción.

El grupo de compuestos analizados más numeroso corresponde al de los ésteres. Constituyen un conjunto de aromas fermentativos asociados con aromas frutales que pueden contribuir de forma muy significativa en el aroma de los vinos blancos (Ferreira et al. 1995). De acuerdo con la literatura, los dos grupos principales de ésteres que se han asociado con el carácter frutal son los ésteres de acetato

(acetatos de etilo, hexilo, isoamilo y 2-feniletilo) y los ésteres etílicos, así, de acuerdo con Ugliano y Henschke (2009), la sinergia organoléptica que ocurre entre los distintos ésteres determinará las características sensoriales del vino que los contenga. En los vinos estudiados, el acetato de isoamilo y lactato de etilo fueron los ésteres dominantes, entre los dos suman más del 60% de la concentración total de ésteres y se encuentran en mayor concentración en los vinos elaborados con la cepa CLI 271. Además de estos compuestos, otros ésteres tales como isovalerato de etilo, butirato de etilo, hexanoato de etilo, octanoato de etilo y acetato de 2-feniletilo superaban o se encontraban muy cerca del umbral de percepción en todos los vinos. La suma total de ésteres fue más elevada en los vinos fermentados con la cepa CLI 271. Estos resultados coinciden con los encontrados por Balboa-Lagunero et al. (2013) en vinos de la variedad Palomino fino elaborados con distintas cepas de levaduras donde los vinos resultantes de la fermentación con CLI 271 destacaban por el contenido total en ésteres.

Los ácidos grasos descritos en el vino han sido relacionados con aromas típicos a queso, grasas rancias y notas ásperas. Los principales ácidos encontrados en los vinos estudiados fueron el ácido butírico, isovalerianico, hexanoico y octanoico. La concentración de cada uno de ellos fue similar en todos los vinos siendo más elevada en los vinos elaborados con la cepa CLI 271, además todos ellos superaron el umbral de olfacción por lo que tendrán un impacto aromático importante en los vinos resultantes. A pesar de que la presencia de ácidos grasos se asocia frecuentemente a sabores desagradables, van a jugar un papel importante en el equilibrio aromático ya que su síntesis es antagónica a la hidrólisis de los ésteres análogos (Gil et al. 2006; Cordero-Bueso et al. 2016).

La familia de las lactonas, caracterizada por sus aromas típicos frutales, resultó en concentraciones distintas para las tres elaboraciones. Sólo se detectó la γ -butirolactona. El vino elaborado con LSA presentó casi el doble de concentración que el obtenido con la cepa CLI 271, sin embargo, el elaborado con la cepa CLI 889 obtuvo concentraciones muy similares al de LSA. Pero en ninguno de los casos se encontró en concentraciones superiores a su umbral de percepción. Esta familia destaca principalmente en vinos envejecidos en madera a los que aporta importantes características sensoriales (Perestrelo et al. 2006).

La familia de aldehídos y cetonas está relacionada con aromas de oxidación (Escudero et al. 2000). En general podemos observar que el vino elaborado con LSA presenta los niveles más altos de esta familia principalmente debido a la concentración de diacetilo que fue muy superior a los otros vinos.

Con respecto a los terpenos, los compuestos analizados dentro de esta familia se caracterizan por aportar notas florales y frescas. Su presencia va a ser muy importante por su influencia en la calidad del vino. Tradicionalmente, estos compuestos han sido relacionados con las uvas y no con los procesos de fermentación pero recientemente se ha demostrado su síntesis "*de novo*" por parte de *Saccharomyces cerevisiae*, dependiendo de la situación redox y del nivel de nitrógeno disponible en el medio de fermentación (Carrau 2005). Así, la concentración de terpenos libres liberados al vino no sólo va a depender del contenido en precursores aromáticos y de la variedad de uva. En nuestro estudio los principales monoterpenos encontrados fueron linalol, α -terpineol, geraniol y β -citronelol. La concentración total de esta familia fue variable dependiendo de la cepa de levadura empleada, así, los vinos procedentes de la

elaboración con la cepa CLI 889 y LSA fueron los que presentaron los mayores niveles de monoterpenos. El linalol, con concentraciones superiores a 60 µg/L fue el más abundante y se encontró por encima de su umbral de percepción olfativa en todos los vinos.

Tabla 22. Concentración de los compuestos volátiles analizados en los vinos elaborados con las cepas CLI 271, CLI 889 (n=3) y LSA (n=1). Agrupación de los compuestos por familias químicas (media ± dv).

Compuestos	CLI 271	CLI 889	LSA
Terpenoles (µg/L)			
β-Mirceno	1,13 ± 0,17	1,48 ± 0,17	1,51
α-Terpineno	0,17 ± 0,02	0,17 ± 0,02	0,21
Limoneno	0,39 ± 0,07	0,42 ± 0,06	0,49
γ-Terpineno	1,15 ± 0,15	1,46 ± 0,14	1,63
Linalol	67,53 ± 11,35	74,29 ± 7,60	77,01
α-Terpineol	20,24 ± 4,42	17,53 ± 2,62	18,01
β-Citronelol	12,19 ± 2,04	18,76 ± 1,83	16,11
Geraniol	17,71 ± 1,66	22,85 ± 1,87	22,80
<i>Total terpenoles</i>	<i>120,51 ± 17,24</i>	<i>136,96 ± 15,08</i>	<i>137,77</i>
C13-norisoprenoides (µg/L)			
β-Damascenona	1,18 ± 0,19	1,22 ± 0,12	1,39
<i>Total C13-norisoprenoides</i>	<i>1,22 ± 0,12</i>	<i>1,18 ± 0,19</i>	<i>1,39</i>
Alcoholes (mg/L)			
Isobutanol	33,74 ± 7,68	40,04 ± 4,21	35,35
1-Butanol	0,96 ± 0,11	0,35 ± 0,02	0,32
Alcohol isoamilico	285,22 ± 73,93	315,86 ± 9,03	224,05
1-Hexanol	1,46 ± 0,23	1,65 ± 0,16	1,53
Cis-3-hexen-1-ol	0,02 ± 0,00	0,02 ± 0,00	0,02
Metionol	1,36 ± 0,28	0,57 ± 0,03	0,57
β-Feniletanol	52,42 ± 5,91	34,59 ± 0,98	38,15
<i>Total alcoholes</i>	<i>375,19 ± 86,57</i>	<i>393,08 ± 12,12</i>	<i>299,99</i>
Lactonas (mg/L)			
γ-Butirolactona	4,85 ± 0,88	7,15 ± 0,51	8,95
<i>Total lactonas</i>	<i>4,85 ± 0,88</i>	<i>7,15 ± 0,51</i>	<i>8,95</i>
Ácidos (mg/L)			
Ácido isobutírico	1,47 ± 0,44	1,73 ± 0,26	1,85
Ácido butírico	0,55 ± 0,09	0,67 ± 0,09	0,87
Ácido isovalerianico	2,77 ± 0,56	2,41 ± 0,25	2,11
Ácido hexanoico	3,10 ± 0,29	2,58 ± 0,46	2,51
Ácido octanoico	3,34 ± 0,42	2,60 ± 0,41	2,63
Ácido decanoico	0,22 ± 0,05	0,20 ± 0,04	0,33
<i>Total ácidos</i>	<i>11,44 ± 0,74</i>	<i>10,19 ± 1,35</i>	<i>10,30</i>
Ésteres (mg/L)			
Butirato de etilo	0,30 ± 0,04	0,33 ± 0,05	0,40
Isovalerato de etilo	0,21 ± 0,06	0,15 ± 0,01	0,22
Acetato de isoamilo	2,83 ± 0,53	1,29 ± 0,15	1,81
Hexanoato de etilo	0,66 ± 0,00	0,51 ± 0,09	0,62
Acetato de hexilo	0,15 ± 0,02	0,11 ± 0,02	0,14
Lactato de etilo	3,35 ± 0,62	3,82 ± 0,73	2,73
Octanoato de etilo	0,72 ± 0,03	0,53 ± 0,09	0,64
3-Hidroxi-butirato de etilo	0,12 ± 0,02	0,20 ± 0,06	0,13
Succinato de dietilo	0,00 ± 0,00	0,17 ± 0,02	0,10
Acetato de 2-feniletilo	0,52 ± 0,12	0,18 ± 0,03	0,27
<i>Total ésteres</i>	<i>8,85 ± 0,83</i>	<i>7,29 ± 1,16</i>	<i>7,05</i>
Aldehídos y cetonas (mg/L)			
Diacetilo	0,15 ± 0,03	0,26 ± 0,11	0,37
Acetoina	Tr	Tr	Tr
Benzaldehído	0,18 ± 0,04	0,07 ± 0,02	0,15
<i>Total aldehídos y cetonas</i>	<i>0,33 ± 0,05</i>	<i>0,33 ± 0,06</i>	<i>0,51</i>
Total general (mg/L)	400,78 ± 87,41	418,19 ± 10,45	326,94

Tr: trazas

Por último destacar la importancia de la β -damascenona, único representante de la familia de los C13-norisoprenoides. Su umbral de percepción es muy bajo y en los tres vinos lo supera aportando aromas florales con atributos de violeta. Resultados similares fueron encontrados en vinos de la variedad Chardonnay (Li et al. 2008).

Atendiendo a estos resultados, es importante resaltar que las cepas autóctonas seleccionadas, CLI 271 y CLI 889, mostraron una mayor síntesis o liberación de compuestos aromáticos que la cepa comercial. Además no se encontraron diferencias notables en la liberación de compuestos varietales entre las cepas CLI 889 y LSA y la cepa CLI 271 fue capaz de generar más ésteres relacionados con aromas frutales.

Paralelamente se realizó un análisis de componentes principales (ACP) al conjunto de compuestos aromáticos estudiados con el fin de revelar los compuestos que se diferenciaban mejor entre los vinos de Malvasía elaborados con las distintas cepas de levaduras (Tabla 23 y Figura 55). Los dos primeros componentes del ACP explican el 62,2% de la varianza total de los datos (con una carga factorial > 0,5000). El primer componente con un 31,4% de la varianza explicada agrupa principalmente las variables relacionadas con los vinos elaborados con la cepa LSA en plano **positivo** y los relacionados con los vinos elaborados con la cepa CLI 889 en el **negativo**. Los principales compuestos relacionados con el factor 1 en los vinos de LSA son α -terpineno, diacetilo, butirato de etilo e isovalerato de etilo. A excepción del α -terpineno (del que no se tiene constancia de su UPO), todos se encontraron por encima del umbral de percepción olfativa por lo que resultaron relevantes en el aroma de estos vinos. Las variables más significativas del componente 1 relacionadas con vinos de la cepa CLI 889 fueron alcohol isoamílico y cis-3-hexen-1-ol. En cuanto al segundo componente que revela el 30,8% de la varianza, está representado en el plano **positivo** por compuestos de aromas agradables (β -feniletanol, hexanoato de etilo y acetato de isoamilo) pero también compuestos de aromas desagradables (metionol, benzaldehído, 1-butanol) donde se clasifican los vinos de la cepa de levadura CLI 271, y los compuestos succinato de dietilo y β -citronelol en el plano **negativo** donde se ubican los vinos de la levadura CLI 889.

Tabla 23. Análisis de componentes principales aplicado a los compuestos volátiles de los vinos Malvasía con cepas de levaduras CLI 271, CLI 889 y LSA.

Componente principal	Varianza explicada (%)	Varianza acumulada (%)	Variables más correlacionadas con cada componente principal (carga factorial > 0,8000)
1	31,4	31,4	α -Terpineno
			Diacetilo
			Butirato de etilo
			Isovalerato de etilo
			Alcohol isoamílico
			Cis-3-hexen-1-ol
2	30,8	62,2	β -Feniletanol
			Metionol
			Benzaldehído
			1-Butanol
			Hexanoato de etilo
			Acetato de isoamilo
			Succinato de dietilo
			β -Citronelol

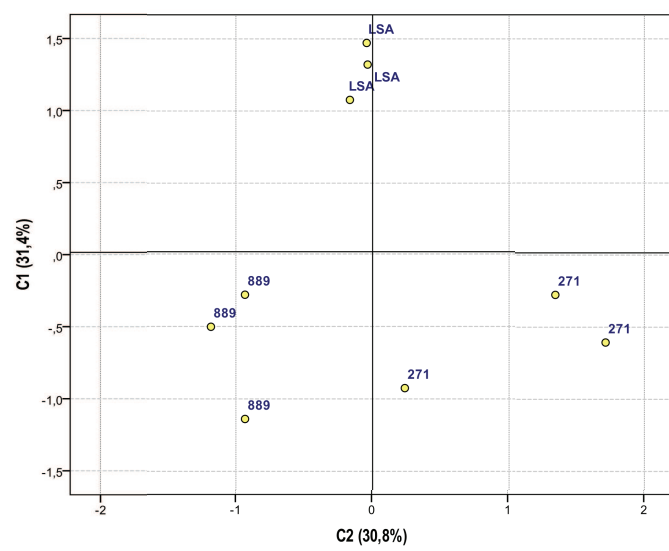


Figura 55. Representación gráfica de del ACP de vinos Malvasía con cepas de levaduras CLI 271, CLI 889 y LSA realizado con compuestos aromáticos varietales y mayoritarios. Componentes principales: C1 (31,4%) y C2 (30,8%).

VII.2.2.4. Influencia sobre las características sensoriales de los vinos

Se realizó una cata de descriptores de los vinos a nivel visual, olfativo y gustativo cuyos resultados fueron tratados estadísticamente (test de Tukey con niveles de significación de $p < 0,001$ [muy significativa], $p < 0,01$ [significativa] y $p < 0,05$ [poco significativa]) para establecer las diferencias entre los descriptores de los vinos procedentes de las distintas cepas de levadura.

Los parámetros establecidos en la cata visual (Figura 56) puntuaron de forma muy parecida a excepción del vino procedente de la cepa LSA que obtuvo una puntuación significativamente superior en cuanto al carácter “vivacidad/brillo”. A su vez, todos los vinos fueron descritos por poseer color amarillo pajizo con notas verdosas.

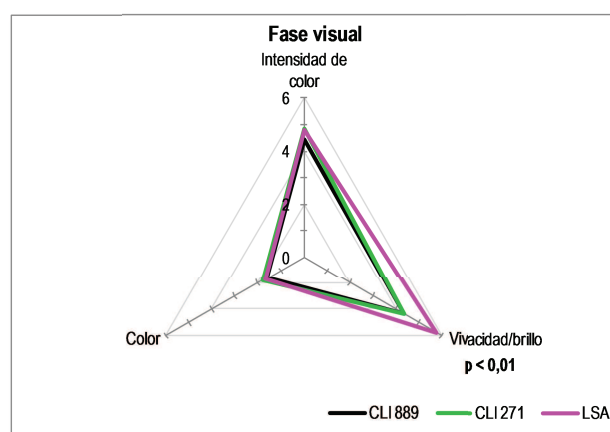


Figura 56. Fase visual de los vinos Malvasía elaborados con las cepas de levaduras CLI 271, CLI 889 y LSA.

En cuanto a los descriptores aromáticos (Figura 57), los vinos de las fermentaciones con las cepas CLI 889 y LSA obtuvieron perfiles muy similares y las mejores puntuaciones en cuanto a “calidad global del

aroma”, “intensidad de aroma floral e “intensidad aromática global”, apreciándose mayores diferencias entre los vinos de LSA y CLI 271 en el descriptor de “calidad global del aroma”. Los vinos de CLI 889 fueron considerados más alcohólicos pero sin apreciarse diferencias significativas con respecto a los otros dos y notablemente más florales, junto con los LSA, con respecto a las fermentaciones de CLI 271. Los jueces resaltaron en sus comentarios el fuerte carácter floral con notas de anís de los vinos de CLI 889. El resto de parámetros resultaron muy parecidos entre las muestras por lo que no resultaron determinantes a la hora de estimar la calidad global y valorar la preferencia de los vinos de estudio.

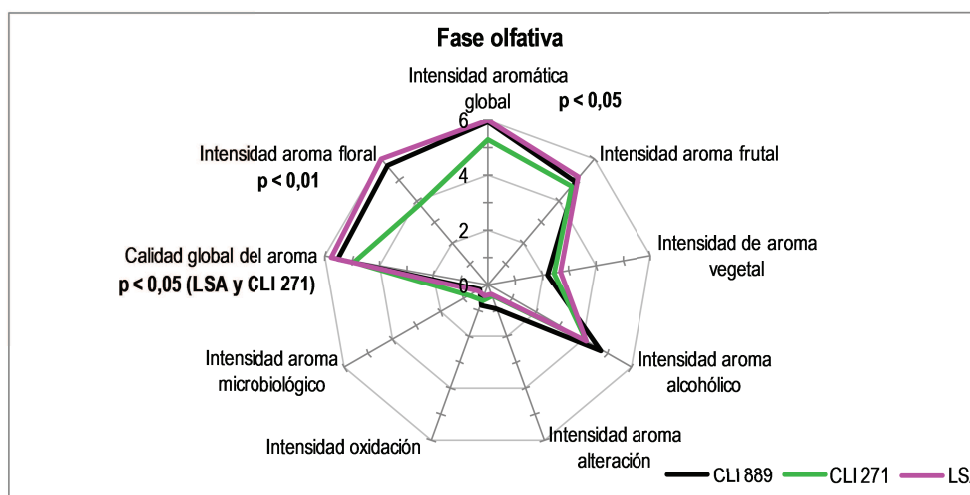


Figura 57. Perfiles aromáticos de los vinos Malvasía las cepas de levaduras CLI 271, CLI 889 y LSA.

Sobre los descriptores gustativos (Figura 58), volvieron a obtenerse perfiles bastante homogéneos entre vinos de las cepas CLI 889 y LSA. Nuevamente, ambos obtuvieron las puntuaciones más altas para el descriptor de “calidad global”, apreciándose las diferencias más notables entre los vinos de LSA y los de CLI 271. Las puntuaciones más altas en cuanto al carácter “afrutado” fueron para los vinos CLI 889, mejor valorado y significativamente superior a los de CLI 271. Respecto a los descriptores “vegetal/herbáceo” y “amargor”, las puntuaciones fueron más elevadas en el vino de CLI 271. Para el resto de parámetros no hubo resultados concluyentes.

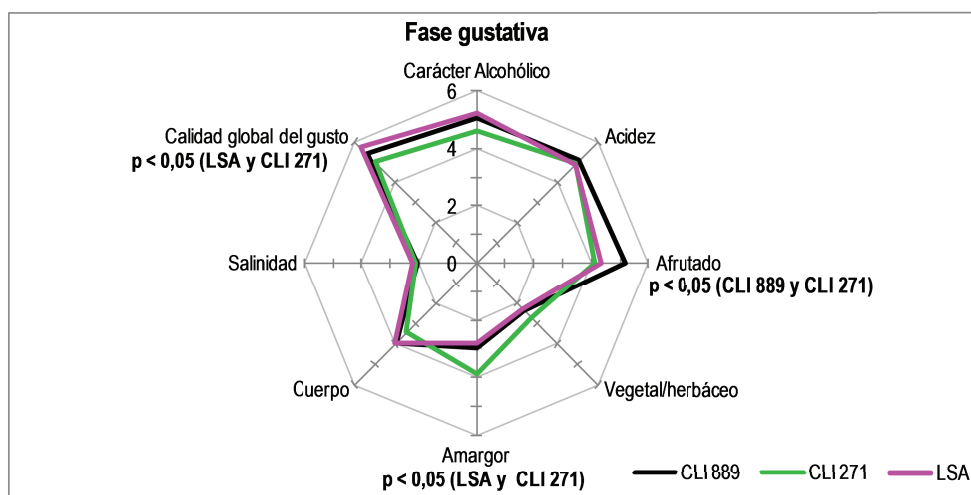


Figura 58. Perfiles gustativos de los vinos Malvasía las cepas de levaduras CLI 271, CLI 889 y LSA.

Con el objetivo de conocer si las diferencias encontradas en el análisis descriptivo eran determinantes para distinguir entre las fermentaciones, se realizaron catas discriminatorias triangulares empleando copas de cata opacas y presentando 4 series distintas en cada prueba. Además, se pidió al panel de cata que realizase una valoración hedónica sobre la preferencia de los vinos. Sólo se tuvieron en cuenta las preferencias de los jueces que acertaron en cada prueba.

La Tabla 24 muestra los resultados de las catas triangulares con los niveles de significación de aciertos en cada serie para cada una de las pruebas realizadas de acuerdo con la normativa ISO 4120:2007. También se presenta la preferencia de los jueces expresada como el porcentaje total de la muestra preferida en el conjunto de las 4 series para cada prueba triangular. Los resultados derivados de la primera prueba, correspondiente a los vinos elaborados con las cepas CLI 889 y CLI 271 indican que en 3 de las 4 series los jueces distinguieron significativamente (nivel de significación del 5%) los vinos presentados. En cuanto a la preferencia, el panel se decantaba por los vinos elaborados con la cepa CLI 889 en un 70% de los casos sobre los de CLI 271 (30%). La segunda prueba, en la que se comparaban los vinos de CLI 889 y LSA exhibió un porcentaje elevado de aciertos. El panel distinguió los vinos en 3 de las 4 series presentadas con niveles de significación del 5% (en la serie 2) y del 1% (series 3 y 4), sin embargo, el panel no mostró preferencia por ninguna de las dos elaboraciones. Por último, se confrontaron los vinos elaborados con la cepa CLI 271 y los de la cepa comercial LSA. El nivel de aciertos en esta prueba también resultó muy significativo, el panel distinguió claramente los vinos de las dos cepas en 3 de las 4 series (niveles de significación del 1% y del 5%) y a la hora de puntuar se decantaron por el vino de CLI 271. El 53% prefería el vino de CLI 271 y el de 47% el de LSA.

Tabla 24. Resultados de las pruebas triangulares.

Prueba	Serie	Significación Aciertos (%)	Preferencia (%)		
			CLI 889	CLI 271	LSA
P1	S1	5	70	30	
	S2	Ns			
	S3	5			
	S4	5			
P2	S1	Ns	50		50
	S2	5			
	S3	1			
	S4	1			
P3	S1	1		53	47
	S2	5			
	S3	Ns			
	S4	1			

Ns: no significativo

Para poder establecer una correlación del análisis sensorial con la composición volátil de los vinos elaborados, se calcularon los valores de actividad olfativa (OAV) de todos los compuestos cuantificados en cada vino, así tendremos una idea del potencial aromático individual de cada uno de ellos. En la Tabla 25 se muestran los 17 compuestos analizados con un OAV>1 y que por tanto, se consideran contribuyentes directos al aroma de los vinos.

Algunos compuestos con OAV>1 pudieron contribuir de forma positiva en todos los vinos, entre ellos destacamos los compuestos varietales linalol y β -damascenona (aportan notas varietales con aromas florales), β -feniletanol (rosas), butirato de etilo, isoalerato de etilo, acetato de isoamilo, hexanoato de etilo, octanoato de etilo y acetato de 2-feniletilo (frutales, frescos).

El vino de la cepa CLI 271 obtuvo concentraciones claramente más elevadas para el β -feniletanol, acetato de isoamilo, octanoato de etilo y acetato de 2-feniletilo. Pero también se encontraron otros compuestos con OAV>1 caracterizados por sus olores desagradables, tales como los ácidos isoalerianico, hexanoico y octanoico (aromas a queso y rancio). Esto pudo contribuir a que las puntuaciones recibidas en cuanto a intensidad y calidad global del aroma no fueran muy altas.

Por otro lado, se han obtenido interesantes correlaciones entre algunos compuestos y los resultados del análisis sensorial en los vinos procedentes de las cepas CLI 889 y LSA. Cabe destacar que el vino de CLI 889, que obtuvo puntuaciones más altas para aromas alcohólicos obtuvo también los valores de concentración más altos en alcoholes superiores, con OAVs muy por encima de la unidad y mayores que el resto de muestras, concretamente en compuestos tales como el isobutanol y alcohol isoamílico. A su vez, las cepas LSA y CLI 889 que recibieron puntuaciones más elevadas para el carácter floral también tuvieron mayores concentraciones de aromas varietales donde destacan el linalol y la β -damascenona, hecho que pudo suponer que ambas elaboraciones recibieran mayor puntuación en intensidad y calidad global del aroma en comparación con los vinos elaborados con CLI 271.

Tabla 25. Compuestos con OAV>1 en los vinos (la concentración de cada compuesto corresponde a la media de los tres depósitos utilizados por levadura para las CLI 271 y CLI 889, la LSA se realizó en un solo depósito).

		Concentración				OAV		
		CLI 271	CLI 889	LSA		CLI 271	CLI 889	LSA
Compuestos	Descriptor sensorial							
Varietales (µg/L)					UPO* (µg/L)			
Linalol	Floral, cítrico	67,53	74,29	77,01	25	2,70	2,97	3,08
β-Damascenona	Floral, lilas	1,28	1,22	1,39	0,05	23,67	24,40	27,80
		(mg/L)						
Mayoritarios (mg/L)								
Isobutanol	Alcohol	33,74	40,04	35,35	40	0,84	1,00	0,88
Alcohol isoamílico	Vegetal/herbáceo	9,51	10,53	7,47	30	9,51	10,53	7,47
Metionol	Amargo, áspero	1,36	0,57	0,57	1	1,36	0,57	0,57
β-Feniletanol	Rosas	3,74	2,47	2,73	14	3,74	2,47	2,73
Butirato de etilo	Fruta ácida, manzana	0,30	0,33	0,40	0,02	14,96	16,41	20,10
Isovalerato de etilo	Fruta dulce, naranja, mora	0,21	0,15	0,22	0,003	69,20	51,50	72,77
Acetato de isoamilo	Plátano	2,83	1,29	1,81	0,03	94,37	43,01	60,19
Hexanoato de etilo	Fruta ácida, manzana	0,66	0,54	0,62	0,01	65,72	53,85	62,25
Octanoato de etilo	Fruta ácida, manzana	0,72	0,55	0,64	0,58	1,24	0,95	1,10
Acetato de 2-feniletilo	Fruta, manzana verde	0,52	0,18	0,27	0,25	2,10	0,73	1,06
Diacetilo	Mantequilla	0,15	0,26	0,37	0,10	1,50	2,60	3,67
Ácido butírico	Queso	0,55	0,57	0,87	0,17	3,21	3,33	5,11
Ácido isovalerianico	Queso azul	2,77	2,41	2,11	0,03	92,18	80,41	70,47
Ácido hexanoico	Queso	3,10	2,58	2,51	0,42	7,37	6,15	5,97
Ácido octanoico	Mantequilla, rancio	3,34	2,60	2,63	0,50	6,68	5,21	5,26

*UPO: umbral de percepción olfativa en vino. Los descriptores aromáticos junto con los umbrales se encontraron en la literatura (Etievant, 1991; Ferreira et al., 2000; Guth, 1997)

Estos resultados preliminares ponen de manifiesto que el empleo de levaduras autóctonas seleccionadas en la región de Madrid puede servir para la elaboración de vinos de calidad de la variedad Malvasía Aromática, que a su vez, resulta una variedad alternativa interesante cuando se trata de buscar mejorar la calidad sensorial de los vinos.

VII.2.3. Efecto de la crianza sobre lías

El objetivo fundamental de este trabajo se centró en la influencia de la crianza sobre lías en las propiedades físico-químicas de vinos de la variedad Malvasía Aromática obtenidos con distintos métodos de elaboración y fermentados con distintas cepas de levaduras, así como la evaluación de la composición volátil y las propiedades organolépticas tras cinco meses de envejecimiento sobre lías en botella.

El estudio se realizó con vinos blancos de Malvasía procedentes del ensayo 1 de maceración prefermentativa (maceración pelicular prefermentativa en frío durante 18h [M18] y elaboración convencional [C]) y con los vinos de Malvasía elaborados mediante el empleo de distintas cepas de levaduras (CLI 271,

CLI 889 y LSA) (los ensayos de elaboración y el uso de distintas cepas de levaduras se describen en los apartados VI.3.3.2 y VI.3.4 de materiales y métodos respectivamente). La metodología empleada para el ensayo de crianza sobre lías se describe en el apartado VI.3.5 de materiales y métodos.

VII.2.3.1. Influencia sobre las características generales de los vinos

Tras un periodo de crianza en botella de cinco meses, se analizaron los parámetros enológicos de los vinos sometidos a tratamiento sobre lías y su control (sin lías) para determinar sus características fisicoquímicas y comprobar si la crianza sobre lías había tenido efecto alguno sobre la composición de los vinos (Tabla 26). Los datos recogidos en el análisis de los diferentes parámetros no muestran diferencias notables entre los tratamientos. Se observa cómo en casi todos los vinos sometidos a crianza sobre lías tiende a producirse una disminución en el parámetro de acidez titulable y grado alcohólico, pero al igual que el resto de parámetros, no se apreciaron diferencias significativas entre los tratamientos lo que indica que la levadura comercial empleada para la crianza sobre lías no ha tenido efecto en los parámetros generales de los vinos.

Tabla 26. Parámetros generales de los vinos Malvasía elaborados de forma convencional (C), maceración 18h (M18) y las cepas de levadura CLI 271, CLI 889 y LSA crianza con lías (L) (n=1) y sin lías (n=3) (media \pm dv*).

Tratamiento	pH	Acidez titulable (g/L ác. Tartárico)	SO ₂ libre (mg/L)	SO ₂ total (mg/L)	Grado alcohólico (% v/v)	Acidez volátil (mg/L)
C	3,32 \pm 0,00	7,1 \pm 0,0	15 \pm 0,0	57 \pm 0,0	13,6 \pm 0,0	0,3 \pm 0,0
C L	3,08	6,3	15	50	13,3	
M18	3,30 \pm 0,00	6,5 \pm 0,0	12 \pm 0,0	54 \pm 0,0	13,4 \pm 0,1	0,1 \pm 0,0
M18 L	3,04	6,1	17	61	12,5	
CLI 271	2,90 \pm 0,04	6,1 \pm 0,2	17 \pm 2,5	73 \pm 1,7	12,7 \pm 0,1	0,2 \pm 0,0
CLI 271 L	2,89	6,0	14	71	12,6	0,2
CLI 889	3,15 \pm 0,01	6,8 \pm 0,2	16 \pm 0,0	74 \pm 1,5	13,2 \pm 0,0	0,4 \pm 0,0
CLI 889 L	2,95	6,5	11	71	12,9	0,4
LSA	3,17	6,4	14	69	13,0	0,5
LSA L	2,95	6,45	12	74	12,0	0,5

VII.2.3.2. Influencia sobre la composición aromática de los vinos

VII.2.3.2.1. Vinos de distintos métodos de elaboración

La Figura 59 muestra el efecto que ha tenido la crianza sobre lías en la composición volátil total de los vinos de Malvasía elaborados de forma convencional y tratados con maceración prefermentativa en frío agrupados por familias: varietales (terpenoles y C13-norisoprenoides), alcoholes, ácidos, lactonas, ésteres, aldehídos y cetonas. El tratamiento con lías indujo un aumento en las familias de compuestos varietales, alcoholes y ésteres en ambas elaboraciones pero sólo se apreció un aumento significativo en los compuestos varietales de los vinos elaborados con maceración mientras que en los convencionales este aumento no fue notable. El mismo comportamiento fue observado en un estudio realizado por Bautista et al. (2007) en vinos blancos gallegos en los que tras un periodo de siete meses en crianza sobre lías el

contenido en monoterpenos fue superior al de los vinos control. Las lactonas revelaron diferente comportamiento entre las dos elaboraciones (representadas por un solo compuesto), los vinos con crianza sobre lías mostraron un incremento significativo con respecto a los no tratados en los vinos convencionales, sin embargo, los vinos macerados no se vieron afectados. Finalmente, ácidos, aldehídos y cetonas disminuyeron su concentración siendo ésta significativa en la familia de los ácidos en los dos métodos de elaboración; aldehídos y cetonas mostraron un descenso muy notable en los vinos macerados con tratamiento de lías. Otros autores también encontraron un descenso importante en el contenido de ácidos grasos en vinos blancos en crianza sobre lías (Bueno et al. 2006; Del Barrio-Galán & Sánchez-Iglesias 2010).

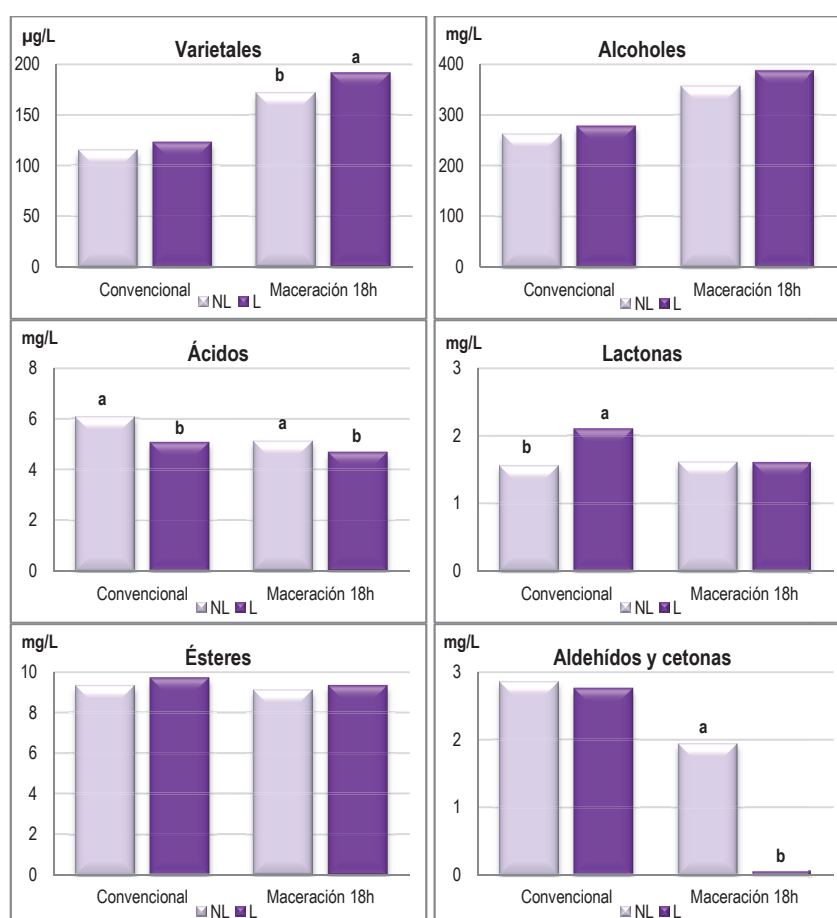


Figura 59. Efecto del tratamiento con lías sobre la evolución de la composición volátil de vinos Malvasía elaborados de forma convencional y con maceración prefermentativa. L: tratamiento con lías; NL: sin tratamiento con lías. Valores con diferentes letras en la misma elaboración indican diferencias significativas entre tratamientos (n=3).

La Tabla 27 presenta la influencia del tratamiento con lías sobre los compuestos volátiles cuantificados individualmente en los vinos de Malvasía procedentes de las dos elaboraciones, convencional y maceración (expresados en µg/L los terpenoles y C13-norisoprenoides y en mg/L el resto de compuestos), junto con dos análisis de varianza (ANOVA) para identificar los compuestos que muestran diferencias significativas por el efecto del contacto de las lías en los vinos estudiados. Los resultados para

los 37 compuestos analizados han sido organizados en siete familias químicas: terpenoles, C13-norisoprenoides, alcoholes, ésteres, lactonas, ácidos y aldehídos y cetonas. El ANOVA muestra el efecto del tratamiento con lías en un 18,9% (7 de 37 compuestos) de los volátiles identificados y cuantificados en los vinos convencionales mientras que en los macerados el efecto de las lías fue significativo para el 35,1% (13 de los 37 compuestos) de los volátiles.

El comportamiento de cada compuesto entre las elaboraciones fue diferente para el tratamiento de estudio. En general, la mayor concentración en el contenido total de volátiles estudiados se obtuvo para los vinos macerados con tratamiento de lías.

En relación con los compuestos varietales, que son considerados como un factor de calidad positivo para el aroma debido a su bajo umbral de percepción y su relación con el aporte de atributos florales al vino, se han identificado y cuantificado ocho volátiles de la familia de los terpenoles: β -mirceno, limoneno, γ -terpineno, linalol, α -terpineol, β -citronelol y geraniol; y uno de la familia de los C13-norisoprenoides: β -damascenona. Estos compuestos, que pueden encontrarse de forma conjugada en las uvas, podrían liberarse fácilmente durante los procesos de vinificación por la actividad de las enzimas y por las condiciones de pH ácido de los vinos (Flanzy 2000a). Pero no toda la fracción ligada va a ser liberada durante la fermentación, ya que en todos los tipos de vinos, durante el envejecimiento, las formas conjugadas liberan sus agliconas pudiendo aumentar el contenido en terpenos y norisoprenoides (Sefton et al. 1990). Entre los terpenos encontrados, el linalol fue el más relevante. En todos los vinos superó su umbral de percepción olfativa y aumentó su concentración con el tratamiento de lías pero sin encontrarse diferencias significativas con respecto al control. β -mirceno, α -terpineol y geraniol fueron significativamente superiores en los vinos C tratados con lías, pero todos ellos en más bajas concentraciones que su umbral de percepción. Los vinos M con lías, mostraron un incremento notable con respecto a los no lías en α -terpineno, limoneno, γ -terpineno, α -terpineol y geraniol, pero también en bajas concentraciones y sin alcanzar su umbral de percepción. Con respecto a la β -damascenona, su concentración no varió con el tratamiento de lías en el vino convencional. En los vinos macerados presentó los niveles más altos tras el contacto con las lías. Cabe destacar que en todas las muestras analizadas su concentración estuvo muy por encima de su umbral de percepción, por lo tanto se considerará por contribuir notablemente al aroma de estos vinos.

Los alcoholes superiores se producen principalmente durante la fermentación; a baja concentración (por debajo de 400 mg/L), contribuyen a la complejidad aromática del vino mientras que en altas concentraciones sus olores penetrantes podrían enmascarar el aroma del vino (Ribéreau-Gayon et al. 2003b). En nuestro estudio, la mayoría de alcoholes superiores incrementa su concentración con el tratamiento de lías en las dos elaboraciones pero este aumento sólo es significativo para el 1-butanol. Estos resultados contrastan con los encontrados por Bautista et al. (2007) en vinos blancos en los que todos los alcoholes incrementaron su concentración a excepción del 1-butanol tras siete meses de crianza sobre lías.

Del grupo de las lactonas solo se ha identificado y cuantificado la γ -butirolactona que muestra cambios significativos en su concentración tras el contacto con lías en los vinos de elaboración convencional quedando muy lejos de su umbral de percepción olfativa.

La familia de los ácidos grasos, muestra descriptores de aroma como queso o rancio. Los ácidos de cadena larga, octanoico y decanoico, disminuyeron significativamente su concentración después del contacto con las lías en las dos elaboraciones siendo este descenso más acusado en el caso del ácido decanoico en los vinos macerados, lo que coincide con resultados obtenidos por otros autores (Bueno et al. 2006; Del Barrio-Galán & Sánchez-Iglesias 2010). Este efecto podría estar relacionado con la capacidad de las manoproteínas para unirse a ciertos compuestos volátiles reduciendo así su volatilidad.

Los ésteres son cualitativamente muy abundantes en los vinos. Los ésteres etílicos y acetatos de etilo son compuestos volátiles, que juegan un papel importante en el aroma del vino blanco debido al matiz afrutado que proporcionan. Su hidrólisis tiene lugar durante el almacenamiento y envejecimiento de los vinos, dependiendo de la temperatura, grado alcohólico y pH (Flanzy 2000a). Además, la esterificación e hidrólisis puede verse afectada por la actividad de las esterasas que son liberadas por las lías (Mauricio et al. 1993). Se produjo un aumento significativo en succinato de dietilo en los vinos macerados tratados con lías sin alcanzar su umbral de percepción. Estos resultados están de acuerdo con Riu-Aumatell et al. (2006) que encontraron un aumento notable en la concentración de este compuesto en vinos blancos espumosos tras un periodo de contacto con lías. El resto de compuestos no se vieron afectados por el tratamiento de lías.

Por último, la familia de aldehídos y cetonas, relacionada con aromas desagradables. Se aprecia que el contenido de diacetilo y acetoina ha disminuido significativamente en la muestra de maceración tras el tratamiento de lías. En el caso del diacetilo, cabe destacar que en la muestra de maceración, previo al contacto las lías, su concentración superaba el umbral de percepción olfativa. El benzaldehído es el único que aumenta significativamente en el vino macerado y al igual que la acetoina se encuentra muy lejos de su umbral de percepción, por lo que no contribuirá al aroma de estos vinos. En el vino convencional las lías no han tenido un efecto significativo sobre los componentes de esta familia.

La comparación entre los vinos muestra cambios en la composición aromática de los mismos que indica que la crianza sobre lías durante 5 meses tras la fermentación alcohólica podría ser una alternativa a la crianza tradicional ya que se produce un aumento del contenido de ciertas sustancias volátiles que aportan aromas agradables (compuestos varietales como el linalol, α -terpineol, geraniol y β -damascenona y algunos ésteres como el succinato de dietilo) y ayudan a disminuir otros relacionados con aromas desagradables (ácidos grasos de cadena larga como el octanoico y decanoico).

De acuerdo con las condiciones ensayadas, podemos concluir que el tratamiento con lías ha causado mayores variaciones en los compuestos aromáticos de los vinos macerados, que en los de elaboración convencional.

Tabla 27. Composición volátil de los vinos Malvasía con elaboración convencional (C) y maceración prefermentativa 18h (M18) con y sin tratamiento de lías (L) (media \pm dv) (n=3).

CONVENCIONAL					MACERACIÓN 18h		ANOVA	
Compuestos	UPO ^a	Ref. [*]	C	C L	M18	M18 L	C	M18
Terpenoles (µg/L)								
β-Mirceno	-		1,16 ± 0,06	1,45 ± 0,11	1,66 ± 0,28	2,02 ± 0,11	*	Ns
α-Terpineno	-		0,18 ± 0,04	0,23 ± 0,02	0,16 ± 0,04	0,29 ± 0,01	Ns	**
Limoneno	15	c	0,51 ± 0,11	0,57 ± 0,04	0,47 ± 0,08	0,77 ± 0,03	Ns	**
γ-Terpineno	-		1,62 ± 0,14	1,74 ± 0,14	1,61 ± 0,34	2,47 ± 0,10	Ns	*
Linalol	25	b	75,76 ± 4,79	77,92 ± 0,31	103,47 ± 5,07	110,08 ± 4,46	Ns	Ns
α-Terpineol	250	b	18,62 ± 0,75	21,87 ± 0,36	22,56 ± 4,28	32,53 ± 1,59	**	**
β-Citronelol	100	a	5,14 ± 1,02	4,55 ± 0,13	22,63 ± 2,81	18,72 ± 0,55	Ns	Ns
Geraniol	30	c	10,05 ± 0,06	12,43 ± 0,16	18,03 ± 2,39	22,99 ± 1,02	***	*
C13-norisoprenoides (µg/L)								
β-Damascenona	0,05	a	1,78 ± 0,12	1,61 ± 0,03	1,03 ± 0,05	1,39 ± 0,05	Ns	**
Alcoholes (mg/L)								
Isobutanol	40	b	26,51 ± 0,10	27,68 ± 1,90	31,51 ± 1,31	31,12 ± 0,67	Ns	Ns
1-Butanol	150	c	0,63 ± 0,01	0,80 ± 0,04	0,66 ± 0,03	1,02 ± 0,04	**	***
Alcohol isoamílico	30	b	203,63 ± 2,20	219,72 ± 19,92	245,53 ± 14,17	273,23 ± 16,92	Ns	Ns
1-Hexanol	8	b	1,17 ± 0,08	1,29 ± 0,09	1,16 ± 0,10	1,21 ± 0,07	Ns	Ns
Cis-3-hexen-1-ol	0,4	b	0,38 ± 0,11	0,23 ± 0,33	0,28 ± 0,43	0,30 ± 0,47	Ns	Ns
Metionol	1	b	1,52 ± 0,24	1,24 ± 0,26	3,90 ± 0,30	4,25 ± 0,31	Ns	Ns
Alcohol bencílico	200	d	0,16 ± 0,03	0,20 ± 0,04	0,09 ± 0,00	0,08 ± 0,00	Ns	Ns
β-Feniletanol	14	b	28,58 ± 1,56	27,44 ± 1,63	73,82 ± 4,23	75,88 ± 2,02	Ns	Ns
Lactonas (mg/L)								
γ-Butirolactona	35	d	1,55 ± 0,13	2,09 ± 0,30	1,60 ± 0,01	1,68 ± 0,01	*	Ns
Ácidos (mg/L)								
Ácido isobutírico	2,30	e	0,70 ± 0,08	0,76 ± 0,09	0,44 ± 0,09	0,50 ± 0,12	Ns	Ns
Ácido butírico	0,17	b	0,64 ± 0,70	0,03 ± 0,03	Tr	Tr	Ns	Ns
Ácido isovalerianoico	0,03	b	0,80 ± 0,14	0,88 ± 0,22	0,41 ± 0,00	0,48 ± 0,01	Ns	Ns
Ácido hexanoico	0,42	b	1,92 ± 0,09	1,84 ± 0,24	1,88 ± 0,01	1,96 ± 0,11	Ns	Ns
Ácido octanoico	0,50	b	1,66 ± 0,06	1,40 ± 0,14	1,85 ± 0,08	1,60 ± 0,12	*	*
Ácido decanoico	1	b	0,35 ± 0,19	0,15 ± 0,00	0,53 ± 0,01	0,14 ± 0,00	*	***
Ésteres (mg/L)								
Butirato de etilo	0,02	b	0,20 ± 0,01	0,23 ± 0,02	0,16 ± 0,01	0,16 ± 0,01	Ns	Ns
Isovalerato de etilo	0,003	b	0,57 ± 0,03	0,54 ± 0,04	0,40 ± 0,03	0,46 ± 0,03	Ns	Ns
Acetato de isoamilo	0,03	b	0,65 ± 0,10	0,79 ± 0,07	0,40 ± 0,02	0,38 ± 0,07	Ns	Ns
Hexanoato de etilo	0,01	b	0,35 ± 0,00	0,37 ± 0,07	0,34 ± 0,06	0,31 ± 0,02	Ns	Ns
Acetato de hexilo	1	f	0,22 ± 0,01	0,26 ± 0,04	0,11 ± 0,01	0,12 ± 0,01	Ns	Ns
Lactato de etilo	154	c	5,40 ± 0,79	5,62 ± 1,90	5,15 ± 0,06	5,00 ± 0,04	Ns	Ns
Octanoato de etilo	0,58	c	0,58 ± 0,10	0,48 ± 0,03	0,60 ± 0,01	0,30 ± 0,47	Ns	Ns
3-Hidroxi-butiato de etilo	20	d	0,11 ± 0,00	0,06 ± 0,07	0,15 ± 0,00	0,47 ± 0,01	Ns	Ns
Succinato de dietilo	1,20	b	0,62 ± 0,06	0,68 ± 0,20	0,30 ± 0,01	0,52 ± 0,08	Ns	**
Acetato de 2-feniletilo	0,25	b	0,63 ± 0,15	0,67 ± 0,17	1,50 ± 0,44	1,59 ± 0,46	Ns	Ns
Aldehídos y cetonas (mg/L)								
Diacetilo	0,10	a	Tr	Tr	0,49 ± 0,05	Tr	Ns	***
Acetoina	150	c	2,79 ± 0,37	2,70 ± 0,28	1,40 ± 0,10	Tr	Ns	***
Benzaldehído	5	b	0,05 ± 0,00	0,05 ± 0,00	0,05 ± 0,00	0,06 ± 0,00	Ns	*

^aUPO: umbral de percepción olfativa Ns: no significativo; Tr: trazas. ANOVA (test de Tukey) con niveles de significancia en que los tratamientos difieren: *, **, *** significación al $p < 0,05$, $p < 0,01$, $p < 0,001$ respectivamente, Ns: no significativo. *Referencias bibliográficas: a: (Guth 1997), b: (Ferreira et al. 2000), c: (Etievant 1991), d: (Aznar et al. 2003), e: (Nettenbreijer & Gemert 1977), f: (Chaves et al. 2007).

Con el objetivo de interpretar mejor los resultados, se realizó un análisis de componentes principales (ACP) entre los vinos Malvasía para determinar la influencia de la elaboración en presencia y ausencia de lías en la composición volátil de los vinos. El ACP nos provee de una representación visual de la relación entre los vinos con los compuestos que los caracterizan (Figura 60). Los dos primeros componentes

principales (C1 y C2) representan el 62% de la varianza con un 41,2% y 20,8% respectivamente. En la Tabla 28 se representan las variables más relacionadas con cada componente (cargas factoriales > 0,8000).

Los vinos de las dos elaboraciones se diferenciaron en función del tratamiento recibido. Los vinos control se explicaron por las variables que componían el C1. Los M18 están relacionados con los compuestos que se agrupan en el plano **positivo del componente 1**: β -citronelol, β -feniletanol, isobutanol, metionol, linalol y acetato de 2-feniletilo, casi todos relacionados con aromas agradables en los vinos. Por su parte, los C se encuentran relacionados con los compuestos β -damascenona, isovalerato de etilo, acetato de hexilo, acetato de isoamilo y acetoina, todos ellos representantes del plano **negativo del componente 1**. Por otro lado, los vinos que fueron sometidos a crianza sobre lías (M18 L y C L) se distinguen en el plano **positivo del componente 2** y se encuentran fundamentalmente representados por γ -terpineno, limoneno y 1-butanol. En cualquier caso, en la representación gráfica de la Figura 60 se observa cómo las mayores diferencias entre los vinos con tratamiento de lías se observaron en los vinos de elaboración con maceración prefermentativa, los vinos de elaboración convencional presentaron diferencias menores en la composición volátil entre los ensayos con y sin lías.

Tabla 28. Cargas factoriales de los compuestos más relacionados con cada componente (C1 y C2) del ACP de vinos Malvasía de elaboración convencional y maceración con y sin tratamiento de lías.

Componente principal	Varianza explicada (%)	Varianza acumulada (%)	Variables más correlacionadas con cada componente principal (carga factorial > 0,8000)	
1	41,2	41,2	β -Citronelol	0,963
			β -Feniletanol	0,956
			Isobutanol	0,923
			Metionol	0,912
			Linalol	0,886
			Acetato de 2-feniletilo	0,815
			β -Damascenona	-0,892
			Isovalerato de etilo	-0,889
			Acetato de hexilo	-0,887
			Acetato isoamilo	-0,869
			Acetoina	-0,816
2	20,8	62	γ -Terpineno	0,899
			Limoneno	0,868
			1-Butanol	0,814

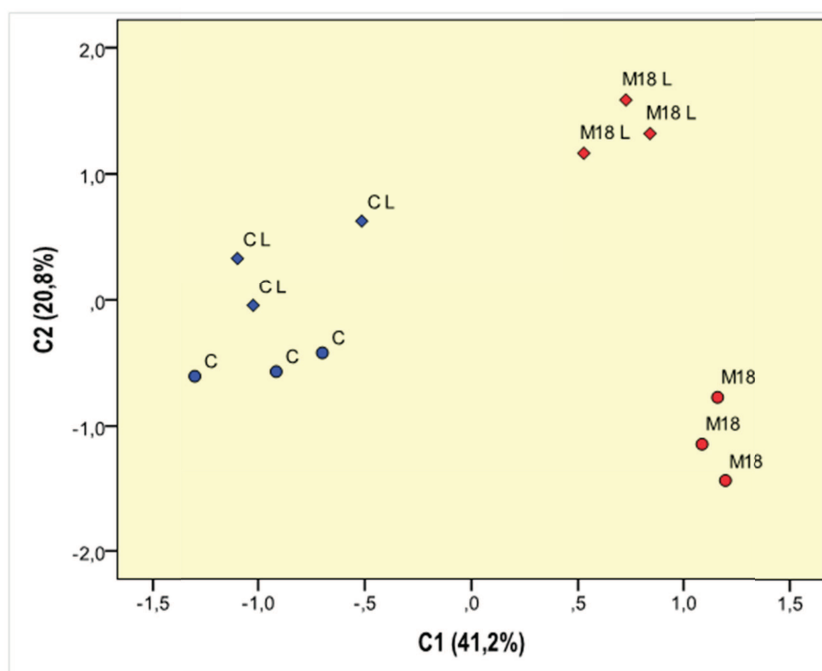


Figura 60. Representación gráfica del ACP de vinos Malvasía convencionales (C) y con maceración prefermentativa 18h (M18) con y sin tratamiento de lías (L). Componentes principales: C1 (41,2%) y C2 (20,8%).

VII.2.3.2.2. Vinos elaborados con distintas cepas de levaduras

Para llevar a cabo la segunda parte del presente estudio se realizó un análisis de la composición volátil de los vinos de Malvasía elaborados con las cepas de levaduras autóctonas CLI 271, CLI 889 y una cepa comercial (LSA) tras 5 meses de crianza en botella con y sin tratamiento de lías. La Figura 61 y Tabla 29 representan la evolución de los compuestos volátiles en los vinos de las tres levaduras durante el tratamiento con lías agrupados en familias químicas. El análisis incluye un total de 35 volátiles distribuidos en aromas varietales (terpenoles y C13-norisoprenoides), alcoholes, ácidos, lactonas, ésteres, aldehídos y cetonas; y su contenido total viene dado en $\mu\text{g/L}$ para los aromas varietales y mg/L el resto compuestos de cada familia. En la Tabla 29 también se muestran los resultados de tres análisis de varianza (ANOVA) para cada elaboración con el fin de determinar los compuestos que manifiestan diferencias significativas de forma individual por el efecto de la crianza sobre lías.

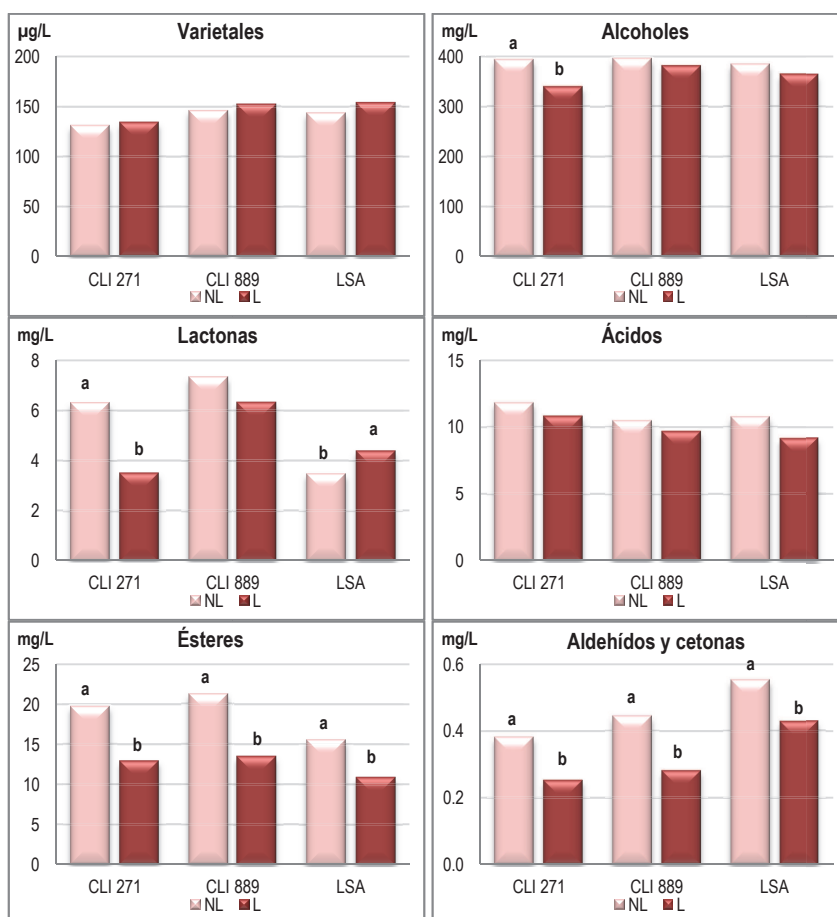


Figura 61. Efecto del tratamiento con lías sobre la evolución de la composición volátil de vinos Malvasia elaborados con las cepas de levaduras CLI 271, CLI 889 y LSA. L: tratamiento con lías; NL: sin tratamiento con lías. Valores con diferentes letras en la misma elaboración indican diferencias significativas entre tratamientos ($n=3$).

El efecto del tratamiento con lías resultó significativo para el 57% de los compuestos identificados en los vinos elaborados con la cepa CLI 889 (20 de los 35 compuestos identificados), el 48% (17 de los 35 compuestos) para los de LSA y el 45% (16 de 35 compuestos) para los de la cepa CLI 271 (Tabla 29).

La crianza sobre lías supuso un descenso significativo en el contenido total de ésteres, aldehídos y cetonas en los vinos de las tres cepas de levaduras (Figura 61). La misma conducta para la familia de los ésteres fue informada por Bueno et al. (2006) y Del Barrio-Galán et al. (2010) en las variedades Macabeo y Verdejo respectivamente tras un periodo de crianza sobre lías. En el ANOVA de la Tabla 29, se aprecian las mayores diferencias en los vinos de CLI 889 y LSA donde 8 de los 10 ésteres identificados descendieron significativamente. Ciertos estudios han demostrado que las interacciones entre macromoléculas liberadas por las lías y compuestos aromáticos presentes en el vino podrían modificar la volatilidad e intensidad aromática de los mismos, así, el contenido inferior de algunos ésteres con respecto al vino control (sin lías) podría explicarse por su unión a manoproteínas y polisacáridos liberados reduciéndose la volatilidad. Estos resultados están de acuerdo con los obtenidos por otros autores en vinos modelo (Lubbers et al. 1994; Chalier et al. 2007). Por otro lado, cabe destacar que en los ésteres en los que se produjo un descenso notable en términos de concentración, éste no fue determinante en cuanto a la contribución al aroma de los

vinos ya que, o bien, a pesar de la pérdida continuaron superando su umbral de percepción (butirato de etilo, isovalerato de etilo (en los vinos de LSA), acetato de isoamilo y hexanoato de etilo (en los vinos de LSA y CLI 889) o bien, antes del tratamiento con lías no alcanzaban el umbral (acetato de hexilo, lactato de etilo, octanoato de etilo, succinato de dietilo (en los vinos LSA y CLI 889) y 3-hidroxi-butilato de etilo (en los vinos de CLI 889). Los vinos de CLI 271 presentan un descenso significativo en 4 de los 10 ésteres cuantificados. Como ocurría con los vinos de CLI 889 y LSA, este descenso no supuso desventajas en términos de contribución al aroma porque butirato e isovalerato de etilo seguían superando su umbral de percepción a pesar de la pérdida de concentración y lactato y octanoato de etilo no lo alcanzaban antes del tratamiento con lías. Es importante destacar el papel del acetato de 2-feniletilo en los vinos CLI 271 puesto que sus concentraciones se encuentran por encima del umbral de percepción olfativa tras la crianza en botella y aumenta significativamente con el tratamiento de lías, por tanto, contribuirá al aroma de estos vinos aportando atributos afrutados.

Con respecto a los aldehídos y cetonas, destacar el descenso significativo de la acetoina (con aromas cremosos y a mantequilla) en los vinos con lías de CLI 889 y LSA. La acetoina por sí sola no tiene un impacto aromático importante debido a su alto umbral de detección; aunque sí por su colaboración al bouquet del vino debido a su interrelación en la formación de diacetilo (Romano & Suzzi 1996), compuesto que, a pesar de que desciende significativamente en los vinos de CLI 889 y LSA supera su umbral de percepción olfativa aportando aromas a mantequilla. El benzaldehído también disminuyó significativamente en los vinos de CLI 889 pero en todos los casos, al igual que la acetoina, se encontraba muy lejos de su umbral.

Entre los vinos de las distintas cepas, el efecto de la crianza sobre lías resultó distinto en la familia de las lactonas (únicamente representada por un compuesto, γ -butirolactona) donde el tratamiento supuso un descenso significativo en los vinos de CLI 271, no se apreciaron variaciones sobre los de CLI 889 y los elaborados con la levadura comercial (LSA) manifestaron un incremento notable. En todos los casos las concentraciones de este compuesto se encontraban lejos de su umbral de percepción.

Los grupos de aromas varietales y ácidos (Figura 61) no vieron modificadas sus concentraciones. En los vinos de crianza sobre lías, se aprecia una tendencia hacia el aumento en los varietales y al descenso en los ácidos pero en ningún caso con significación estadística. De forma individual (Tabla 29), solo los monoterpenos, β -mirceno, limoneno y γ -terpineno variaron significativamente pero se encontraron en bajas concentraciones. En cuanto al único C13-norisoprenoide detectado, β -damascenona, solo se aprecia un aumento significativo en los vinos CLI 889 con tratamiento de lías superando siempre su umbral de percepción olfativa. En los ácidos, al igual que ocurría con los ésteres, el descenso en su concentración como consecuencia del contacto con lías no tuvo trascendencia sobre el aroma de los vinos.

El grupo de los alcoholes (Figura 61) sólo manifestó un descenso notable entre los vinos elaborados con la cepa CLI 271 en crianza sobre lías donde 5 de los 6 compuestos identificados (Tabla 29) disminuyeron su concentración de forma significativa. Solo el metionol y β -feniletanol parecen contribuir de forma activa en el aroma de estos vinos con una concentración mayor a su umbral de percepción aún

disminuyendo en presencia de lías. El isobutanol desciende significativamente encontrándose en niveles inferiores a su umbral en los vinos de CLI 889 en crianza sobre lías.

En conclusión, algunos volátiles mostraron variaciones significativas con respecto al tratamiento con lías. Los ésteres fueron los compuestos más afectados junto con aldehídos y cetonas en los vinos de las cepas CLI 889 y LSA, disminuyendo su concentración. Los vinos de la cepa CLI 271 sufrieron las mayores pérdidas en la familia de los alcoholes. De acuerdo con las cepas de levaduras empleadas en la elaboración de los vinos, podemos afirmar que la crianza sobre lías ha causado mayores cambios en la composición volátil de los vinos de la cepa CLI 889.

Tabla 29. Composición volátil de los vinos Malvasía con distintas levaduras: CLI 271, CLI 889 y LSA; con y sin tratamiento de lías (L) (media \pm dv) (n=3).

Compuestos			CLI 271	CLI 271 L	CLI 889	CLI 889 L	LSA	LSA L	ANOVA		
									CLI 271	CLI 889	LSA
Terpenos ($\mu\text{g/L}$)											
β -Mirreno	-	Ref.*	1,17 \pm 0,22	1,55 \pm 0,08	1,86 \pm 0,06	2,17 \pm 0,27	1,61 \pm 0,16	2,55 \pm 0,50	*	Ns	*
α -Terpineno	-		0,22 \pm 0,03	0,22 \pm 0,02	0,17 \pm 0,06	0,26 \pm 0,02	0,32 \pm 0,03	0,31 \pm 0,06	Ns	Ns	Ns
Limono	15	c	0,53 \pm 0,08	0,56 \pm 0,04	0,49 \pm 0,08	0,79 \pm 0,08	0,64 \pm 0,05	0,98 \pm 0,17	Ns	*	*
γ -Terpineno	-		1,23 \pm 0,12	1,83 \pm 0,06	1,89 \pm 0,10	2,49 \pm 0,27	1,82 \pm 0,11	2,98 \pm 0,55	**	*	*
Linalol	25	b	69,89 \pm 5,52	75,14 \pm 10,87	78,55 \pm 8,29	84,17 \pm 4,79	78,65 \pm 3,57	85,85 \pm 5,77	Ns	Ns	Ns
α -Terpineol	250	b	25,21 \pm 4,12	25,26 \pm 4,20	23,39 \pm 2,06	23,86 \pm 1,31	22,46 \pm 4,59	24,99 \pm 5,15	Ns	Ns	Ns
β -Citronelol	100	a	12,07 \pm 1,12	11,43 \pm 1,67	17,31 \pm 2,05	16,99 \pm 0,96	14,38 \pm 0,80	14,30 \pm 0,83	Ns	Ns	Ns
Geraniol	30	c	19,17 \pm 2,78	16,65 \pm 3,21	20,74 \pm 3,01	19,69 \pm 1,53	22,02 \pm 1,66	20,07 \pm 0,32	Ns	Ns	Ns
C13-norisoprenoides ($\mu\text{g/L}$)											
β -Damascenona	0,05	a	1,24 \pm 0,06	1,16 \pm 0,14	1,11 \pm 0,02	1,33 \pm 0,04	1,31 \pm 0,27	1,26 \pm 0,09	Ns	**	Ns
Alcoholes (mg/L)											
Isobutanol	40	b	35,58 \pm 1,74	28,19 \pm 1,08	42,30 \pm 0,44	37,70 \pm 0,17	35,86 \pm 3,07	31,86 \pm 0,16	**	***	Ns
1-Butanol	150	c	1,03 \pm 0,05	0,90 \pm 0,05	0,40 \pm 0,02	0,35 \pm 0,03	0,37 \pm 0,07	0,29 \pm 0,02	*	Ns	Ns
Alcohol isoamílico	30	b	296,05 \pm 27,63	262,31 \pm 22,26	315,63 \pm 16,13	309,26 \pm 16,92	307,38 \pm 25,69	296,60 \pm 5,68	Ns	Ns	Ns
1-Hexanol	8	b	1,61 \pm 0,01	1,26 \pm 0,01	1,58 \pm 0,03	1,49 \pm 0,04	1,32 \pm 0,04	1,33 \pm 0,03	***	*	Ns
Metionol	1	b	1,80 \pm 0,19	1,36 \pm 0,04	0,85 \pm 0,07	0,68 \pm 0,00	0,48 \pm 0,10	0,61 \pm 0,04	*	*	Ns
β -Feniletanol	14	b	56,33 \pm 3,21	44,91 \pm 1,86	34,30 \pm 2,20	31,11 \pm 0,53	37,90 \pm 5,07	33,09 \pm 2,55	*	Ns	Ns
Lactonas (mg/L)											
γ -Butirolactona	35	d	6,33 \pm 0,98	3,53 \pm 0,28	7,35 \pm 1,25	6,34 \pm 1,27	3,49 \pm 0,32	4,40 \pm 0,45	**	Ns	*
Ácidos (mg/L)											
Ácido isobutírico	2,30	e	1,39 \pm 0,21	1,00 \pm 0,11	1,72 \pm 0,11	1,39 \pm 0,10	1,13 \pm 0,20	1,24 \pm 0,01	*	*	Ns
Ácido butírico	0,17	b	0,64 \pm 0,08	0,41 \pm 0,02	0,73 \pm 0,11	0,65 \pm 0,11	0,40 \pm 0,03	0,48 \pm 0,04	**	Ns	*
Ácido isovaleriano	0,03	b	2,43 \pm 0,30	1,79 \pm 0,18	2,09 \pm 0,13	1,67 \pm 0,07	1,62 \pm 0,04	1,53 \pm 0,03	*	**	*
Ácido hexanoico	0,42	b	2,92 \pm 0,62	3,03 \pm 0,22	2,31 \pm 0,17	2,44 \pm 0,11	2,84 \pm 0,47	2,32 \pm 0,14	Ns	Ns	Ns
Ácido octanoico	0,50	b	4,01 \pm 0,81	4,22 \pm 0,22	3,27 \pm 0,26	3,23 \pm 0,02	4,36 \pm 0,84	3,30 \pm 0,19	Ns	Ns	Ns
Ácido decanoico	1	b	0,41 \pm 0,12	0,37 \pm 0,00	0,34 \pm 0,02	0,30 \pm 0,01	0,41 \pm 0,05	0,27 \pm 0,00	Ns	*	**
Ésteres (mg/L)											
Butirato de etilo	0,02	b	0,27 \pm 0,01	0,20 \pm 0,01	0,31 \pm 0,02	0,28 \pm 0,01	0,39 \pm 0,06	0,27 \pm 0,00	**	Ns	*
Isovalerato de etilo	0,003	b	0,26 \pm 0,04	0,17 \pm 0,01	0,26 \pm 0,01	0,22 \pm 0,03	0,23 \pm 0,02	0,18 \pm 0,02	*	Ns	*
Acetato de isoamilo	0,03	b	1,68 \pm 0,19	1,40 \pm 0,01	1,11 \pm 0,03	0,97 \pm 0,04	1,33 \pm 0,13	1,02 \pm 0,01	Ns	*	*
Hexanoato de etilo	0,01	b	0,54 \pm 0,12	0,38 \pm 0,01	0,52 \pm 0,03	0,36 \pm 0,00	0,59 \pm 0,13	0,30 \pm 0,00	Ns	**	*
Acetato de hexilo	1	f	0,10 \pm 0,01	0,10 \pm 0,00	0,10 \pm 0,00	0,04 \pm 0,00	0,11 \pm 0,01	0,07 \pm 0,01	Ns	***	*
Lactato de etilo	154	c	15,48 \pm 2,86	9,72 \pm 0,91	17,16 \pm 0,84	10,67 \pm 0,40	11,36 \pm 0,32	8,23 \pm 0,11	*	***	***
Octanoato de etilo	0,58	c	0,52 \pm 0,08	0,34 \pm 0,00	0,51 \pm 0,03	0,26 \pm 0,01	0,50 \pm 0,09	0,23 \pm 0,01	*	***	**
3-Hidroxi-butilato de etilo	20	d	0,03 \pm 0,06	0,04 \pm 0,04	0,11 \pm 0,00	0,09 \pm 0,00	0,11 \pm 0,01	0,10 \pm 0,00	Ns	**	Ns
Succinato de dietilo	1,20	b	0,56 \pm 0,22	0,24 \pm 0,01	1,17 \pm 0,00	0,51 \pm 0,01	0,77 \pm 0,09	0,35 \pm 0,00	Ns	**	**
Acetato de 2-feniletilo	0,25	b	0,26 \pm 0,01	0,34 \pm 0,01	0,12 \pm 0,00	0,11 \pm 0,00	0,19 \pm 0,04	0,16 \pm 0,00	**	*	Ns
Aldehídos y cetonas (mg/L)											
Diacetilo	0,10	a	0,16 \pm 0,05	0,11 \pm 0,01	0,23 \pm 0,02	0,11 \pm 0,02	0,40 \pm 0,02	0,26 \pm 0,06	Ns	**	*
Acetoina	150	c	0,04 \pm 0,00	Tr	0,30 \pm 0,07	0,03 \pm 0,03	0,27 \pm 0,08	Tr	Ns	**	**
Benzaldehído	5	b	0,18 \pm 0,04	0,14 \pm 0,02	0,21 \pm 0,01	0,17 \pm 0,01	0,16 \pm 0,05	0,17 \pm 0,00	Ns	**	Ns

^aUPO: umbral de percepción olfativa. Tr: trazas. ANOVA (test de Tukey) con niveles de significancia en que los tratamientos difieren: *, **, *** significación al $p < 0,05$, $p < 0,01$, $p < 0,001$ respectivamente, Ns: no significativo. *Referencias bibliográficas: a: (Guth 1997), b: (Ferreira et al. 2000), c: (Etievant 1991), d: (Aznar et al. 2003), e: (Nettenbreijer & Gemert 1977), f: (Chaves et al. 2007).

Para destacar las diferencias entre los vinos fermentados con las distintas cepas de levaduras con tratamiento de lías, se elaboró un ACP a partir de los datos obtenidos en el análisis de compuestos volátiles (Tabla 29). De los datos relacionados con la composición aromática de los distintos vinos y tratamientos se han extraído seis componentes principales que explicaron el 89,5% de la varianza del conjunto inicial de variables. Los dos primeros componentes (C1 y C2) representan el 51,8% de la varianza con un 28,4% el C1 y 23,3% el C2, y se consideraron adecuados para la discusión de los resultados. La Figura 62 muestra el gráfico de puntuación que representa los resultados del ACP en el espacio de los dos primeros componentes. Los vinos de las cepas LSA (control y lías) y de CLI 271 con tratamiento de lías (CLI 271 L) se agrupan fundamentalmente en el plano positivo de C1 donde los componentes principales que los representan aumentan (con signo -) o disminuyen (signo +) con la crianza sobre lías. Entre las que disminuyen destacan β -feniletanol (0,909), acetato de isoamilo (0,898), 1-butanol (0,822), octanoato de etilo (0,684) y acetato de 2-feniletilo (0,660) y entre las que aumentan se encuentran los monoterpenos linalol (-0,759), γ -terpineno (-0,891) y limoneno (-0,656). Por otro lado, los vinos de las cepas CLI 889 (control y con lías) y CLI 271 sin crianza sobre lías se posicionan en el plano positivo del C2, el cual está formado esencialmente por compuestos que disminuyen significativamente con el tratamiento de lías como γ -butirolactona (0,954), ácido isobutírico (0,909), 1-hexanol (0,891), lactato de etilo (0,809), isobutanol (0,800), isovalerato de etilo (0,779) y succinato de dietilo (0,659).

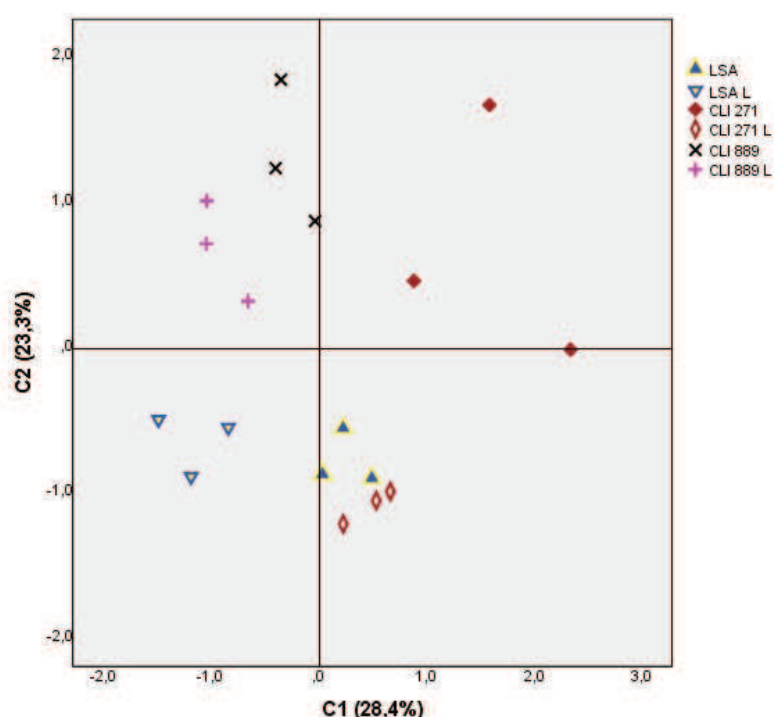


Figura 62. Análisis de componentes principales (ACP) de vinos Malvasía elaborados con las cepas CLI 271, CLI 889 y LSA, con y sin tratamiento de lías (L). Componentes principales: C1 (28,4%) y C2 (23,3%).

Estos resultados parecen confirmar la relación existente entre la crianza sobre lías y el descenso de algunos compuestos volátiles relacionados con aromas agradables como el β -feniletanol (rosas) y ésteres con aromas a fruta como acetatos de isoamilo y 2-feniletilo, isovalerato de etilo, lactato de etilo y succinato de dietilo.

VII.2.3.3. Influencia sobre las características sensoriales de los vinos

Tras el periodo de 5 meses de crianza en botella realizado en presencia y ausencia de lías se realizó un análisis sensorial para determinar la influencia del tratamiento sobre las características organolépticas de los vinos. Se ejecutaron en paralelo pruebas descriptivas y discriminantes triangulares. Por un lado se evaluaron los vinos de las dos elaboraciones: convencional (C) y maceración 18h (M18) y por otro los elaborados con las 3 cepas de levaduras: CLI 271, CLI 889 y LSA. Los resultados fueron tratados estadísticamente para establecer diferencias entre los descriptores de los distintos tratamientos (test de Tukey con niveles de significación de $p < 0,001$ [muy significativa], $p < 0,01$ [significativa] y $p < 0,05$ [poco significativa]).

La Figura 63 recoge los resultados obtenidos tras la valoración sensorial de la fase visual y olfativa de los vinos C (Figura 63A) y M18 (Figura 63B) tras crianza con (L) y sin lías.

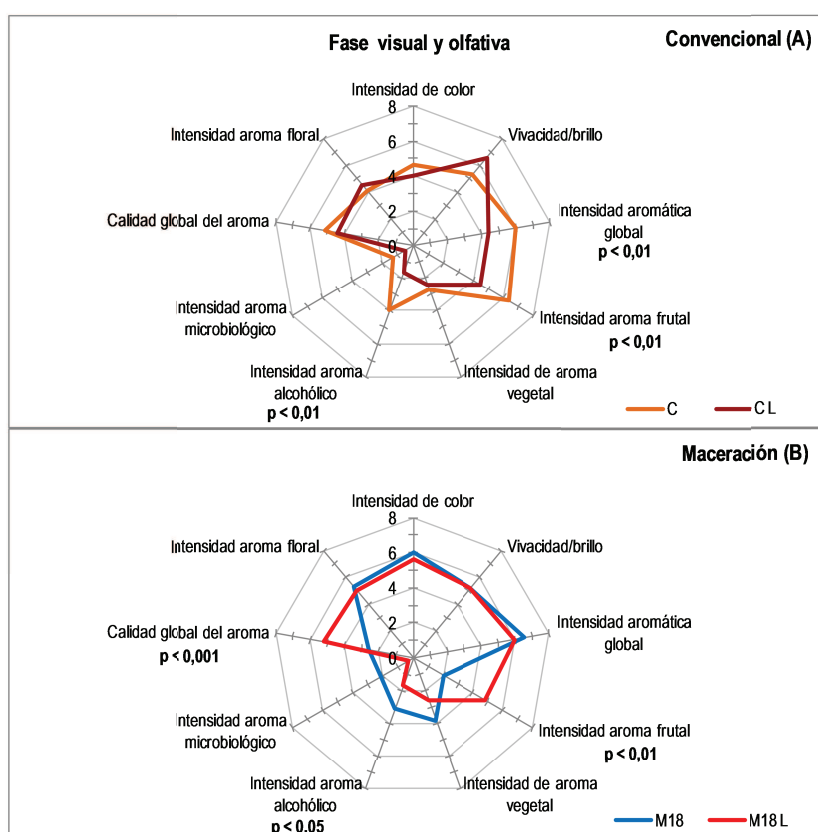


Figura 63. Diagrama sensorial de la fase visual y olfativa en vinos de elaboración convencional (A) y maceración prefermentativa en frío (B) tras 5 meses de crianza en botella con (L) y sin lías.

No se encontraron diferencias significativas en los parámetros de color entre los vinos tratados con lías y los controles tras el periodo de envejecimiento. Se aprecia una tendencia clara de los vinos con lías a mejorar las características de “vivacidad/ brillo” en los vinos convencionales.

En la fase olfativa, se apreciaron algunas diferencias significativas tras el tratamiento con lías. En el caso de los vinos de elaboración convencional (Figura 63A), los tratados presentaron menos puntuación en los parámetros de “intensidad de aroma frutal” e “intensidad aromática global” que los vinos control. Sin embargo, los vinos macerados (Figura 63B) mostraron el comportamiento contrario con respecto al atributo de aromas frutales donde el vino en crianza sobre lías obtuvo una puntuación significativamente superior al control, lo cual pudo resultar determinante para que también recibiese la mayor puntuación con respecto a “calidad global del aroma”. Los vinos control (sin lías) resultaron significativamente más alcohólicos en ambas elaboraciones. El resto de parámetros no presentaron diferencias significativas en ninguna de las elaboraciones.

En el análisis descriptivo de las fases visual y olfativa, representadas para los vinos elaborados con las cepas de levadura CLI 271 (Figura 64A), CLI 889 (Figura 64B) y LSA (Figura 64C), se observa cómo el tratamiento con lías (L) ha resultado distinto en algunos atributos según la cepa de levadura empleada para elaboración.

En cuanto a los atributos de color, el descriptor “vivacidad/brillo” recibió las puntuaciones más altas en todos los vinos tratados con lías, apreciándose diferencias significativas en los vinos elaborados con las cepas autóctonas CLI 271 y CLI 889. Por otro lado, el descriptor “intensidad de color” resultó más elevado en los vinos control, con diferencias significativas entre los vinos CLI 271 y CLI 271 L. Este hecho podría relacionarse con la mejora de la estabilidad de los vinos blancos por acción de algunas manoproteínas liberadas por las levaduras que ayudan a reducir la turbidez producida por la presencia de ciertas proteínas inestables tras la fermentación (Waters et al. 1994; Waters 2000).

Los resultados para el análisis olfativo muestran un incremento significativo en la “intensidad de aroma floral” en el vino de CLI 889 con tratamiento de lías, sin embargo, este atributo recibió mayor puntuación en los vinos control de CLI 271 y LSA, siendo significativo en los de la última. Esto podría deberse a que, como vimos anteriormente, los vinos elaborados con las cepas CLI 889 y LSA presentaron mayores concentraciones de varietales al finalizar la fermentación y el tratamiento con lías podría haber ayudado a potenciar los atributos florales de estos compuestos como veremos más adelante. Principalmente se verían afectados aquellos que contribuyen de forma más activa en el aroma de estos vinos: linalol y β -damascenona. Otro parámetro de calidad en los vinos blancos, “intensidad de aroma frutal”, fue significativamente superior en los vinos tratados elaborados con la cepa CLI 271. En el análisis de la composición aromática (Tabla 29) veíamos cómo el tratamiento de lías había supuesto menos impacto en el contenido individual de la familia de los ésteres; mas adelante veremos cómo ha afectado el tratamiento con lías a los valores de actividad olfativa de estos compuestos. La mayor “intensidad de aroma vegetal” en todos los casos fue dada para los vinos control. El tratamiento de lías, como ocurría en los vinos C y M18, disminuyó el carácter vegetal de los vinos siendo esta reducción más acentuada en los vinos

elaborados con LSA. El mismo comportamiento para este atributo fue encontrado por Bautista et al. (2007) en vinos blancos en crianza sobre lías. Por último, se apuntó por parte de algunos catadores la presencia de aromas microbiológicos en los vinos de la cepa CLI 889 sin lías, sin embargo este carácter no fue detectado en los vinos envejecidos sobre lías. En el resto de parámetros no se aprecian diferencias significativas entre los tratamientos.

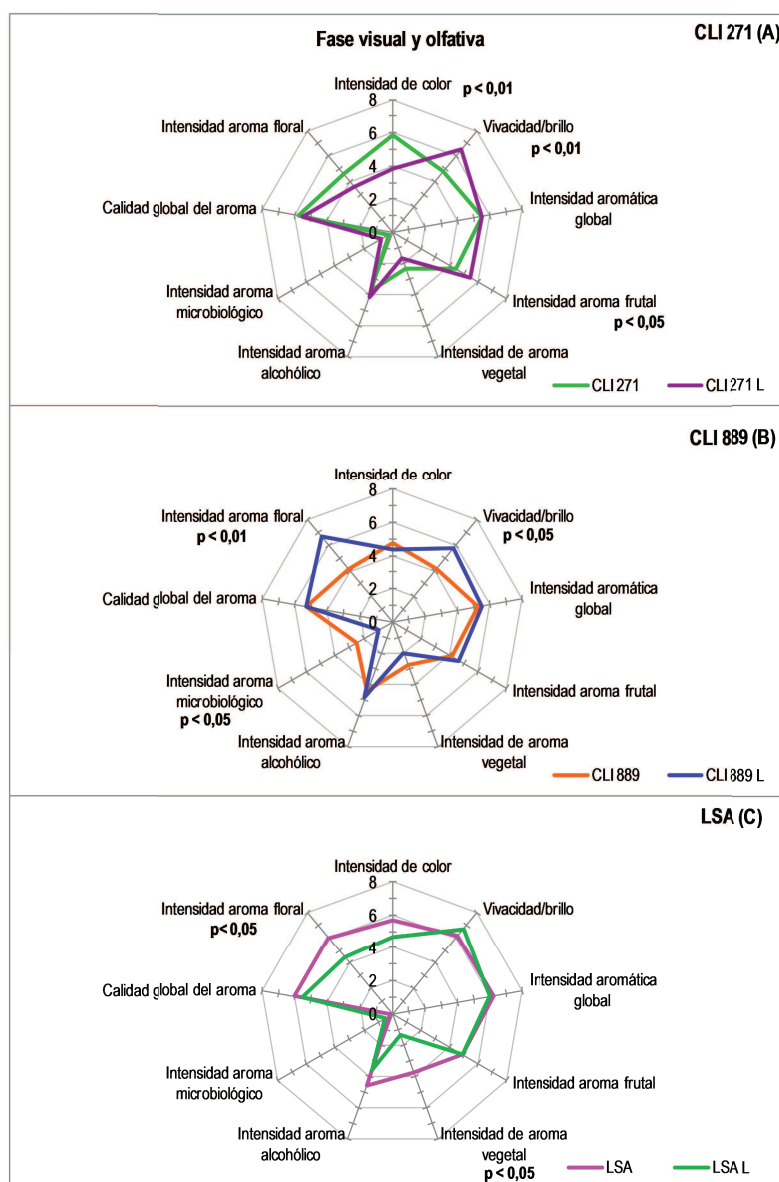


Figura 64. Diagrama sensorial de la fase visual y olfativa en vinos elaborados con las cepas CLI 271(A), CLI 889 (B) y LSA (C) tras 5 meses de crianza en botella con (L) y sin lías.

A continuación se representan los resultados con relación a la fase gustativa entre los vinos convencionales (Figura 65A) y macerados (Figura 65B) con lías y sus correspondientes controles. Las mayores diferencias se encontraron en los parámetros de “amargor” y “calidad global del gusto”. Los vinos en crianza sobre lías de las dos elaboraciones (C y M18) resultaron significativamente menos amargos que

los controles. También fueron apreciados notablemente menos vegetales los M18 L. Estos resultados indican que independientemente del método de elaboración empleado el tratamiento con lías ha favorecido la reducción de las sensaciones de astringencia y notas herbáceas en los vinos. Por otro lado, el tratamiento con lías resultó positivo en los vinos macerados recibiendo mayor puntuación en cuanto a calidad global, contrariamente a los resultados para este parámetro en el convencional donde el vino sin tratamiento fue mejor valorado. Cabe resaltar que el descriptor “afrutado” recibió mayor puntuación en los vinos macerados con tratamiento de lías y en los vinos convencionales sin él, en los dos casos sin significación estadística.

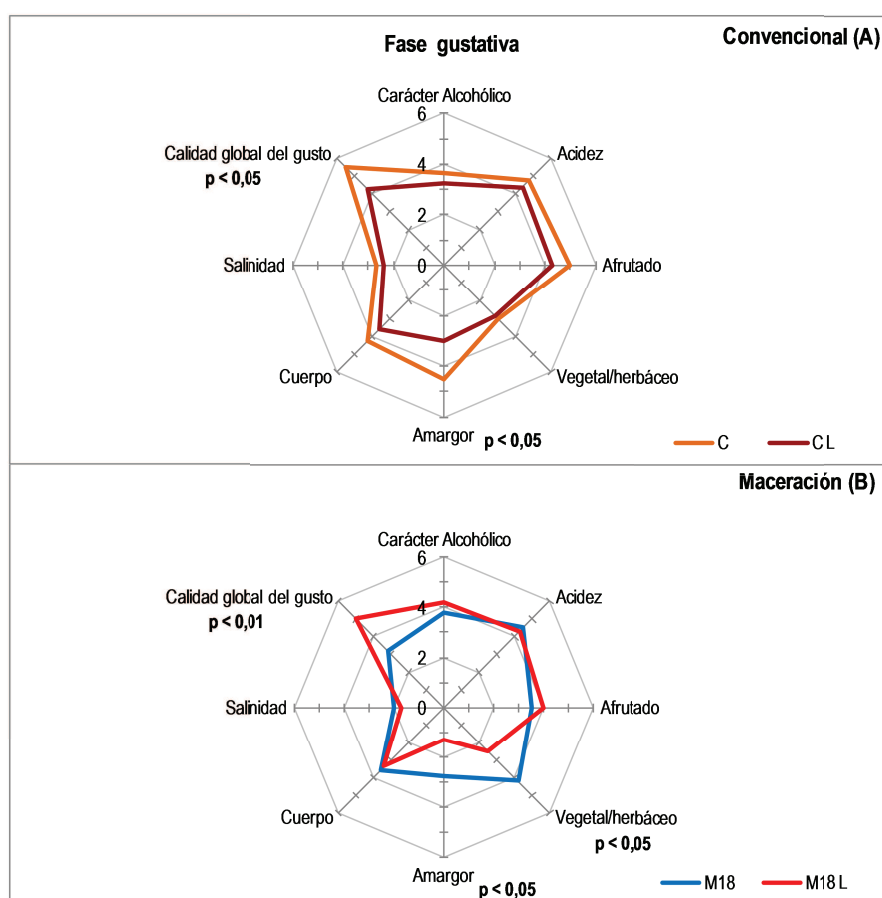


Figura 65. Diagrama sensorial de la fase gustativa en vinos de elaboración convencional (A) y maceración prefermentativa en frío (B) tras 5 meses de crianza en botella con (L) y sin lías.

Con relación a la fase gustativa de los vinos de las distintas cepas de levaduras, en la Figura 66 se observa cómo apenas existen diferencias entre los vinos tratados y los controles. Los vinos sin tratamiento fueron valorados como más alcohólicos y mayor “calidad global del gusto” pero sólo con diferencias significativas en el primer descriptor en los vinos de LSA (Figura 66C). El tratamiento con lías parece rebajar el atributo de “amargor” en todos los vinos pero el descenso solo fue notable en el caso de CLI 271. También se aprecia una ligera tendencia de los vinos tratados con lías a poseer mayor cuerpo, no obstante al igual que el resto de parámetros evaluados no mostraron significación estadística.

En general, todos los vinos estudiados tras la crianza sobre lías mostraron menor acidez que los controles, sin embargo, el panel no encontró diferencias significativas en este descriptor entre ninguno de los vinos comparados.

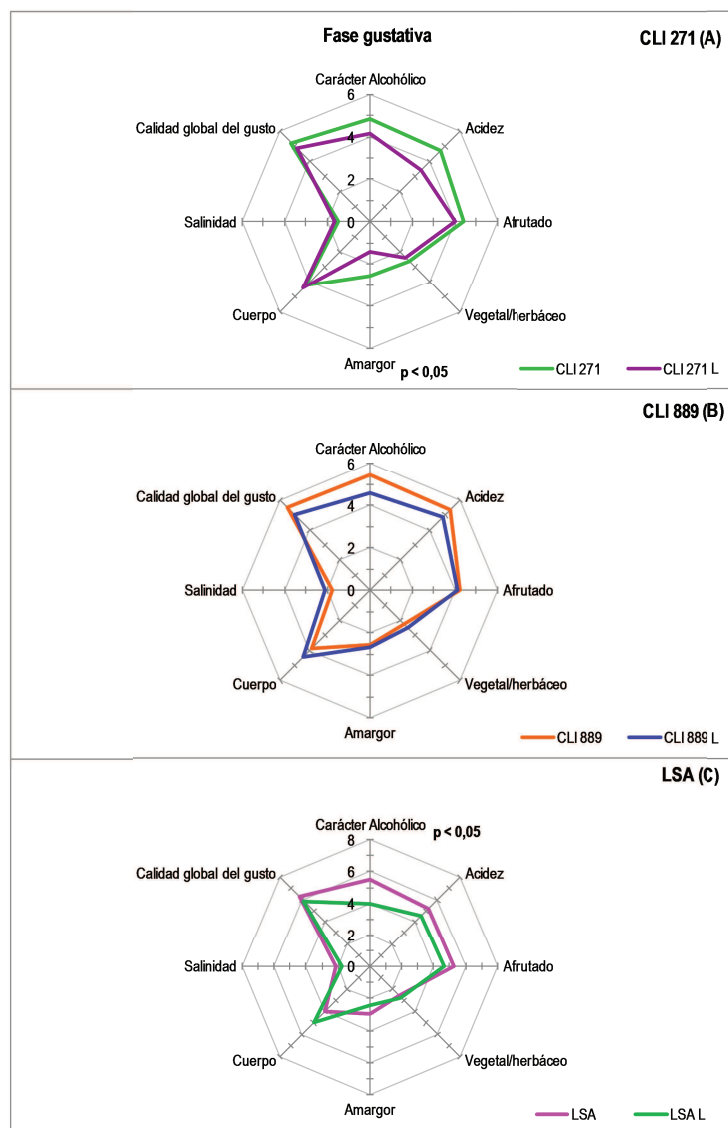


Figura 66. Diagrama sensorial de la fase gustativa en vinos elaborados con las cepas CLI 271(A), CLI 889 (B) y LSA (C) tras 5 meses de crianza en botella con (L) y sin lías.

De acuerdo con las tablas de interpretación de datos descritas en la norma ISO 4120:2007, los resultados derivados de la catas discriminadoras triangulares realizadas para determinar si existía diferenciación estadística entre los vinos envejecidos con lías y los que no, revelaron que los 8 jueces que participaron en la prueba diferenciaron estadísticamente los vinos procedentes de las dos elaboraciones (C y M18) tratados con lías con respecto a sus controles con un nivel de significación del 5% en una de las dos pruebas realizadas para cada tipo de elaboración, por ello, el panel no distinguió las muestras de forma

correcta más que en el 50% de los casos en que se les presentaron y por tanto no se diferenció el tratamiento de lías de su control de forma estadística.

En cuanto a los vinos de las distintas cepas de levaduras, el panel diferenció claramente los vinos de CLI 271 y CLI 889 en crianza sobre lías de sus correspondientes controles con niveles de significación estadística del 1% y 0,1% en las dos pruebas realizadas para los CLI 271 con y sin lías y 5% y 1% en las dos pruebas realizadas para los vinos CLI 889 y CLI 889 L. Sin embargo, el panel no fue capaz de encontrar diferencias significativas entre los vinos de LSA con tratamiento de lías frente a su control en ninguna de las dos pruebas realizadas.

Por último, también se pidió al panel de cata que realizase una valoración hedónica sobre la preferencia de los vinos en cada una de las pruebas presentadas. Sólo se tuvieron en cuenta las preferencias de los jueces que acertaron en cada cata. En cuanto a la preferencia de los catadores en los vinos de las dos elaboraciones, es significativa una de las pruebas en la que 5 de los 6 catadores, que acertaron en la diferenciación de los vinos eligieron el MVS M L como el mejor frente al MVS M no lías, en el resto de catas solo apreciamos leves tendencias a la hora de preferir un vino y en muchos casos los gustos están muy repartidos. Los vinos de CLI 271 sin tratamiento de lías fueron preferidos por 4 de los 7 catadores que acertaron la primera prueba y 5 de los 8 que acertaron en la segunda. Las preferencias en los de CLI 889 estuvieron más repartidas, 3 de los 6 jueces acertantes en la primera prueba prefirieron el CLI 889 L y en la segunda 4 de los 7 que acertaron también preferían el CLI 889 L. En cuanto a los LSA, cabe resaltar la primera prueba en la que los 5 jueces acertantes eligieron el vino con tratamiento de lías como el preferido, la segunda prueba en la que solo acertaron 2 jueces la preferencia se repartió al 50%.

Los resultados del análisis sensorial nos llevan a tener en cuenta las siguientes consideraciones en relación con la influencia del empleo de lías en vinos Malvasía con distintos métodos de elaboración y cepas de levadura:

- ✓ Los vinos de Malvasía envejecidos sobre lías poseen más vivacidad y brillo que los de elaboración convencional.
- ✓ En general, el tratamiento con lías reduce la acidez y el carácter amargo y vegetal de los vinos.
- ✓ El análisis sensorial demostró perfiles organolépticos diferentes para vinos de distintas elaboraciones con tratamiento de lías donde los de maceración prefermentativa envejecidos sobre lías fueron mejor valorados por el panel de cata, sin embargo, en los convencionales el panel se decantó por los de elaboración convencional (sin tratamiento de lías).
- ✓ El tratamiento con lías potenció el carácter floral de los vinos Malvasía elaborados con la cepa de levadura CLI 889 y el carácter afrutado de los CLI 271.
- ✓ El panel se decantó en cata hedónica claramente por los vinos CLI 271 sin lías, mostró una ligera preferencia por los CLI 889 y LSA en crianza sobre lías.

Para valorar la influencia de los compuestos volátiles estudiados en el aroma de los vinos, se calculó el valor de actividad olfativa (OAV) en todos los compuestos analizados. Solo aquellos con OAVs superiores a 1 contribuirán de forma individual al aroma (Guth 1997). Los descriptores aromáticos y el umbral de percepción olfativa para cada compuesto con $OAV > 1$ vienen dados en la Tabla 30. Un total de 16 compuestos volátiles de los 37 identificados en los vinos convencionales y macerados y 16 de 35 identificados en los vinos de las distintas cepas de levadura presentaron $OAV > 1$, contribuyendo al aroma de los vinos estudiados. Como venimos observando, los compuestos varietales linalol y β -damascenona están presentes en los vinos Malvasía contribuyendo al aroma de los mismos confiriéndoles aromas florales con atributos cítricos y lilas respectivamente. En el caso del linalol, se aprecia como el tratamiento con lías no tiene efectos significativos en términos de concentración a pesar de mostrar tendencia al aumento, el OAV fue siempre superior a la unidad. La β -damascenona también presentó valores superiores a 1 en todos los vinos mostrando correlaciones interesantes entre el aumento de los OAVs de los vinos macerados y elaborados con la cepa de levadura CLI 889 en crianza sobre lías y los resultados del análisis sensorial. Ambos vinos fueron mejor valorados por el panel con respecto a sus controles y en el caso concreto de los CLI 889 L destacaban por su carácter floral. La familia de los alcoholes, con descriptores aromáticos generalmente vegetales y amargos a excepción del β -feniletanol (rosas), no presentó diferencias significativas en términos de aroma puesto que sus OAVs se encontraron por encima de la unidad en todos los vinos a excepción del isobutanol en los vinos CLI 889 L. En términos generales las lías no causaron efecto sobre los OAVs de los ésteres en los vinos convencionales y macerados a excepción del octanoato de etilo que tras el tratamiento con lías el OAV disminuye hasta valores inferiores a 1. Para el vino de la cepa CLI 271 con tratamiento de lías, destacado sensorialmente por su carácter afrutado, apreciamos como el acetato de 2-feniletilo con descriptores de fruta presentó $OAV > 1$ en los vinos de crianza tradicional (no lías) y aumentó significativamente tras el tratamiento de lías. En general, los ésteres disminuyeron en los vinos tratados de las distintas cepas de levaduras pero sus OAVs se mantuvieron por encima de la unidad contribuyendo activamente en el aroma. El diacetilo, con aromas a mantequilla y único representante activo en el aroma perteneciente a la familia de aldehídos y cetonas, disminuye en todos los vinos tratados siendo especialmente significativo este descenso en los vinos macerados con lías donde se aprecia un $OAV < 1$. Ciertos compuestos caracterizados por sus olores desagradables cuando se encuentran en valores con $OAV > 1$, tales como los ácidos isovaleriano, hexanoico y octanoico (con aromas a queso y rancio), influyeron por igual en todos los vinos por lo que no se les puede considerar como determinantes en las diferencias de calidad aromática global de los mismos con excepción del ácido butírico que disminuye significativamente en los vinos convencionales tratados con lías.

Tabla 30. Compuestos con OAV>1 de los vinos convencional y maceración prefermentativa y elaborados con las cepas CLI 271, CLI 889 y LSA; con y sin tratamiento de lías (L).

			OAV									
Compuestos	Descriptor sensorial	UPO* (µg/L)	MÉTODOS DE ELABORACIÓN				CEPAS DE LEVADURA					
			CONVENCIONAL		MACERACIÓN		CLI 271		CLI 889		LSA	
			C	C L	M18	M18 L	CLI 271	CLI 271 L	CLI 889	CLI 889 L	LSA	LSA L
Varietales (µg/L)												
Linalol	Floral, cítrico	25	3,03	3,12	4,14	4,40	4,66	5,01	5,24	5,61	5,24	5,72
β-Damascenona	Floral, lilas	0,05	35,60	32,13	20,67	27,73	24,80	23,27	22,13	26,60	26,13	25,13
Mayoritarios (mg/L)												
Isobutanol	Alcohol	40							1,06	0,94		
Alcohol isoamílico	Vegetal/herbáceo	30	6,79	7,32	8,18	9,11	9,87	8,74	10,52	10,31	10,25	9,89
Metionol	Amargo, áspero	1	1,52	1,24	3,90	4,25	1,80	1,36				
β-Feniletanol	Rosas	14	2,04	1,96	5,27	5,42	4,02	3,21	2,45	2,22	2,71	2,36
Butirato de etilo	Fruta ácida, manzana	0,02	10,03	11,69	8,23	7,86	13,68	9,97	15,33	13,76	19,50	13,70
Isovalerato de etilo	Fruta dulce, naranja, mora	0,003	191,48	178,52	131,83	152,61	87,17	57,09	87,52	74,92	77,91	60,34
Acetato de isoamilo	Plátano	0,03	21,52	26,46	13,30	12,80	56,14	46,65	37,07	32,48	44,39	34,01
Hexanoato de etilo	Fruta ácida, manzana	0,01	34,90	37,11	34,37	31,46	53,80	38,11	51,90	35,60	59,24	30,40
Octanoato de etilo	Fruta ácida, manzana	0,58	1,00		1,03							
Acetato de 2-feniletilo	Fruta, manzana verde	0,25	2,50	2,66	5,98	6,35	1,04	1,36				
Diacetilo	Mantequilla	0,10			4,86		1,62	1,14	2,31	1,14	3,97	2,59
Ácido butírico	Queso	0,17	3,79				3,79	2,38	4,30	3,79	2,36	2,82
Ácido isovalerianico	Queso azul	0,03	26,67	29,24	13,81	16,09	81,04	59,82	69,70	55,59	53,91	50,90
Ácido hexanoico	Queso	0,42	4,57	4,38	4,48	4,67	6,95	7,22	5,51	5,80	6,75	5,52
Ácido octanoico	Mantequilla, rancio	0,50	3,31	2,80	3,70	3,20	8,01	8,43	6,55	6,46	8,73	6,61

*UPO: umbral de percepción olfativa en vino. Los descriptores aromáticos junto con los umbrales se encontraron en la literatura (Etievant, 1991; Ferreira et al., 2000; Guth, 1997).

Convendría repetir el ensayo en años sucesivos para comprobar si el efecto del tratamiento con lías resulta relevante y continuado en la variedad Malvasía elaborada con maceración prefermentativa y si los resultados obtenidos para los vinos de las cepas de levaduras CLI 889 y CLI 271 con lías elaborados con maceración prefermentativa se repiten o mejoran con elaboración convencional.

VII.3. INFLUENCIA DE PRÁCTICAS VITÍCOLAS SOBRE LA MADURACIÓN DE LAS UVAS Y SU RELACIÓN CON LA COMPOSICIÓN VOLÁTIL Y PERFIL SENSORIAL DEL VINO EN LA D.O. “VINOS DE MADRID”

El aumento progresivo de las temperaturas como efecto del cambio climático puede influir sobre la maduración y composición de las uvas y en consecuencia sobre la calidad de los vinos resultantes. Con la intención de contrarrestar o suavizar en la medida de lo posible los efectos del clima en la D.O. “Vinos de Madrid” se han estudiado prácticas vitícolas, para determinar su influencia sobre las características de la uva y el vino en las variedades elegidas. Los resultados sobre los distintos cultivos, ordenados por técnica, se expresan a continuación.

Para la realización de este estudio se han empleado las variedades Moscatel de Alejandría y Moscatel de Grano Menudo situadas en la finca experimental “El Encín” perteneciente a la Subzona de Arganda y la variedad Albillo de los parajes “La Mina”, “Navarredonda”, “Camacha”, “Peña Caballera” y “Lancha de la Osa” situados en San Martín de Valdeiglesias y Cadalso de los Vidrios. Las características de los viñedos así como las condiciones climáticas de cada año se describen en los apartados VI.2.1.1.1, VI.2.1.2 y VI.2.2 de materiales y métodos respectivamente.

VII.3.1. Efectos del deshojado en los cvs. Moscatel de Alejandría, Moscatel de Grano Menudo y Albillo Real

El deshojado procura un doble efecto, disminuir la superficie foliar y aumentar la iluminación de los órganos que permanecen, lo que hace que su efecto sobre la calidad de la vendimia dependa del momento de aplicación. De acuerdo con Hidalgo (1999) el deshoje en periodo de crecimiento es nocivo al rendimiento pero favorable a la calidad y durante la madurez disminuye el rendimiento y la calidad. El mismo autor opina que los efectos nocivos son menores e incluso se tornan beneficiosos, si el tratamiento se hace días antes de la vendimia, recomendando una supresión de 3 a 5 hojas por pámpano. Se cita alguna ventaja del deshojado como es un mayor rendimiento en la vendimia manual, estimada entre un 20-40%. Puede producir un incremento de azúcares al haber mayor transpiración, también una pérdida de acidez y la coloración de las bayas ofrece resultados varios, incluso opuestos. En zonas frías se recomienda practicarlo después del cuajado y en zonas cálidas, después del envero.

El objetivo fundamental de este estudio fue determinar los efectos de un deshojado drástico realizado en el envero durante dos vendimias consecutivas (2015 y 2016) sobre la evolución de la maduración de las uvas, la composición físico-química del mosto y el perfil aromático y las características organolépticas de los vinos de los cvs. Moscatel de Alejandría (A), Moscatel de Grano Menudo (MEN) y Albillo Real del paraje La Mina (MIN).

VII.3.1.1. Influencia sobre la evolución de la maduración y composición de la baya

La evolución de la maduración de la uva nos permite identificar diferencias en la acumulación de azúcares y degradación de los ácidos (madurez tecnológica). A continuación se muestra la evolución de distintos parámetros estudiados durante la maduración de las uvas de las tres variedades de estudio: Moscatel de Alejandría, Moscatel de Grano Menudo y Albillo Real.

1. Moscatel de Alejandría

En la Figura 67 se representa la evolución del contenido en azúcares (°Brix) y el peso de la baya en uvas de cepas deshojadas y sin deshojar a lo largo de la maduración en los años 2015 y 2016. Se puede apreciar que el deshojado supuso un retraso en la adquisición de azúcares por la baya y además el ritmo de maduración fue más pausado. Al final, se llegó a niveles similares de madurez por lo que no hubo problemas de falta de maduración industrial debido al deshojado. El retraso medio en el periodo de maduración tecnológica en los dos años (19-24 °Brix) fue de aproximadamente 12 días. Hecho que puede resultar significativo en la maduración de la uva puesto que los últimos estados de desarrollo del fruto de cepas deshojadas en ambas campañas correspondieron a los días en que las temperaturas fueron inferiores a las sufridas por las muestras sin deshojar (Figura 76A). Por otra parte, en un trabajo pionero realizado en la variedad Riesling por Stoll et al. (2010) y más tarde corroborado por Palliotti et al. (2013) para la variedad Sangiovese, se encontró que el deshojado de las hojas apicales cercanas al racimo próximo al envero causaba un retraso en la maduración de aproximadamente dos semanas en comparación con las cepas no deshojadas. De acuerdo con estos autores, en torno al envero, las hojas localizadas en la parte apical son más funcionales, han alcanzado la expansión completa y aún se encuentran lejos de la senescencia. De esta forma, el metabolismo de la vid se verá ralentizado y con ello la maduración será más lenta. En nuestro estudio se deshojaron hojas basales, las cuales poseen una actividad fotosintética prescindible (Yuste 2002) pero el tratamiento fue bastante agresivo (8 hojas de todos los sarmientos, con y sin racimo) así, en la mayoría de los pámpanos, se dejaban apenas 3 o 4 hojas.

Los valores encontrados para el número de bayas en 100 g y el peso de 50 bayas (P_{50}), que explican la evolución del peso de las uvas a lo largo de la maduración, son muy similares para ambos tipos de muestras apreciándose siempre mayores niveles de P_{50} en las muestras control. El comportamiento de los tratamientos de deshojado difieren en los últimos estados de maduración entre las dos vendimias. Durante la vendimia de 2015, en las muestras deshojadas y los controles, el peso de 50 bayas aumentó en los primeros muestreos y después disminuyó hasta el momento de la vendimia. El número de bayas contenidas en 100 g sufrió la correspondiente evolución contrapuesta. Este hecho habitualmente se le

atribuye a un proceso de pérdida de agua de la baya al final de la maduración. En la cosecha de 2016, la muestra no deshojada mantuvo el mismo comportamiento que el año 2015, aumentó el peso de la baya durante los primeros muestreos para terminar descendiendo al final. Las bayas de las cepas deshojadas continuaron engordando y así se refleja en el ligero aumento del P_{50} y la disminución del número de bayas contenidas en 100 g durante la última semana de maduración.

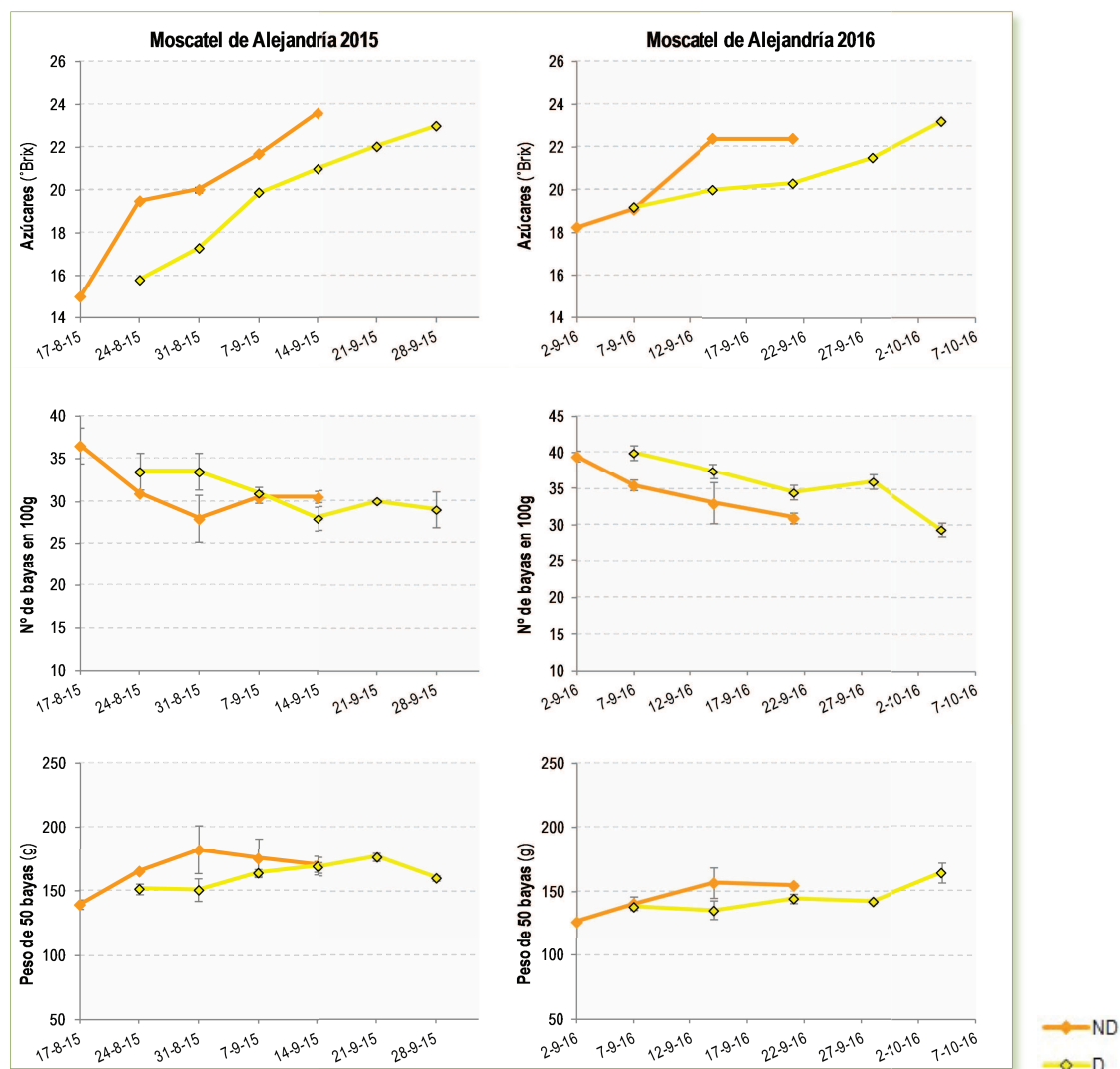


Figura 67. Evolución del contenido en azúcares (°Brix), el número de bayas contenidas en 100 g y el peso (g) de 50 bayas durante la maduración de las uvas de la variedad Moscatel de Alejandria de cepas deshojadas (D) y no deshojadas (ND) en los años 2015 y 2016.

La maduración de la baya implica un descenso de la acidez titulable (AT), como consecuencia de la degradación de los ácidos (principalmente tartárico y málico), y un aumento de pH. Así se manifestó en las dos vendimias estudiadas (Figura 68). Durante la cosecha de 2015, a diferencia de lo indicado por Lavín y Pardo (2001) en uvas Chardonay, no se apreciaron diferencias notables en los parámetros de pH y AT entre ambos tratamientos, alcanzándose niveles similares al final de la maduración. En 2016, casi al final de

la maduración y tras las lluvias mencionadas en la tercera semana de muestreo, el pH permanece casi inalterable durante dos semanas para aumentar notablemente al final de la madurez. La pluviosidad da lugar a un efecto de dilución que hace disminuir la concentración de protones desencadenando un aumento en los niveles de pH. Este efecto también se manifestó en la curva de evolución de potasio. Además, es interesante remarcar que las precipitaciones y la temperatura tienen un efecto sinérgico sobre la acidez del fruto. El consumo de ácidos derivado de las altas temperaturas y el efecto de dilución producido por precipitaciones durante la maduración, pueden ocasionar un descenso de la acidez titulable de la baya. La acidez presentó un descenso lineal a lo largo de las dos vendimias en las dos muestras (deshojadas y no deshojadas) manifestándose cierto retraso en las uvas de cepas deshojadas, que fue superior en los primeros estados de maduración y ligeramente inferior a las muestras no deshojadas al final de la maduración. De acuerdo con Kliewer & Antcliff (1970), el mayor grado de acidificación de las bayas que provienen de cepas deshojadas es debido a la ralentización de la maduración de las uvas. Estos autores, encontraron que durante las primeras semanas de maduración, las muestras deshojadas mostraban mayores niveles de acidez que las no deshojadas, y durante los últimos estados de maduración estas diferencias se reducían hasta casi igualarse. Las dos campañas mostraron niveles de acidez distintos entre sí y además, se aprecian diferencias en la evolución de la AT de las uvas con y sin tratamiento de deshojado. Estos resultados podrían explicarse por dos vías, por un lado el aumento de la insolación y temperatura en los racimos más expuestos (deshojados) podría haber causado mayor degradación de los ácidos contenidos en la baya (Lakso & Kliewer 1975; Kliewer & Smart 1988) y por otro lado las precipitaciones registradas en 2016 durante las primeras etapas del periodo vegetativo habrían desencadenado un aumento de la concentración de ácidos en las bayas en comparación con 2015 (Figura 76B). Resultados similares fueron informados por Junquera et al. (1987) en mostos de la variedad Cencibel en la región de Madrid. La acidez alcanzada al final de la maduración era superior a la de los mostos de la misma variedad procedentes de Tomelloso, una región más cálida y soleada.

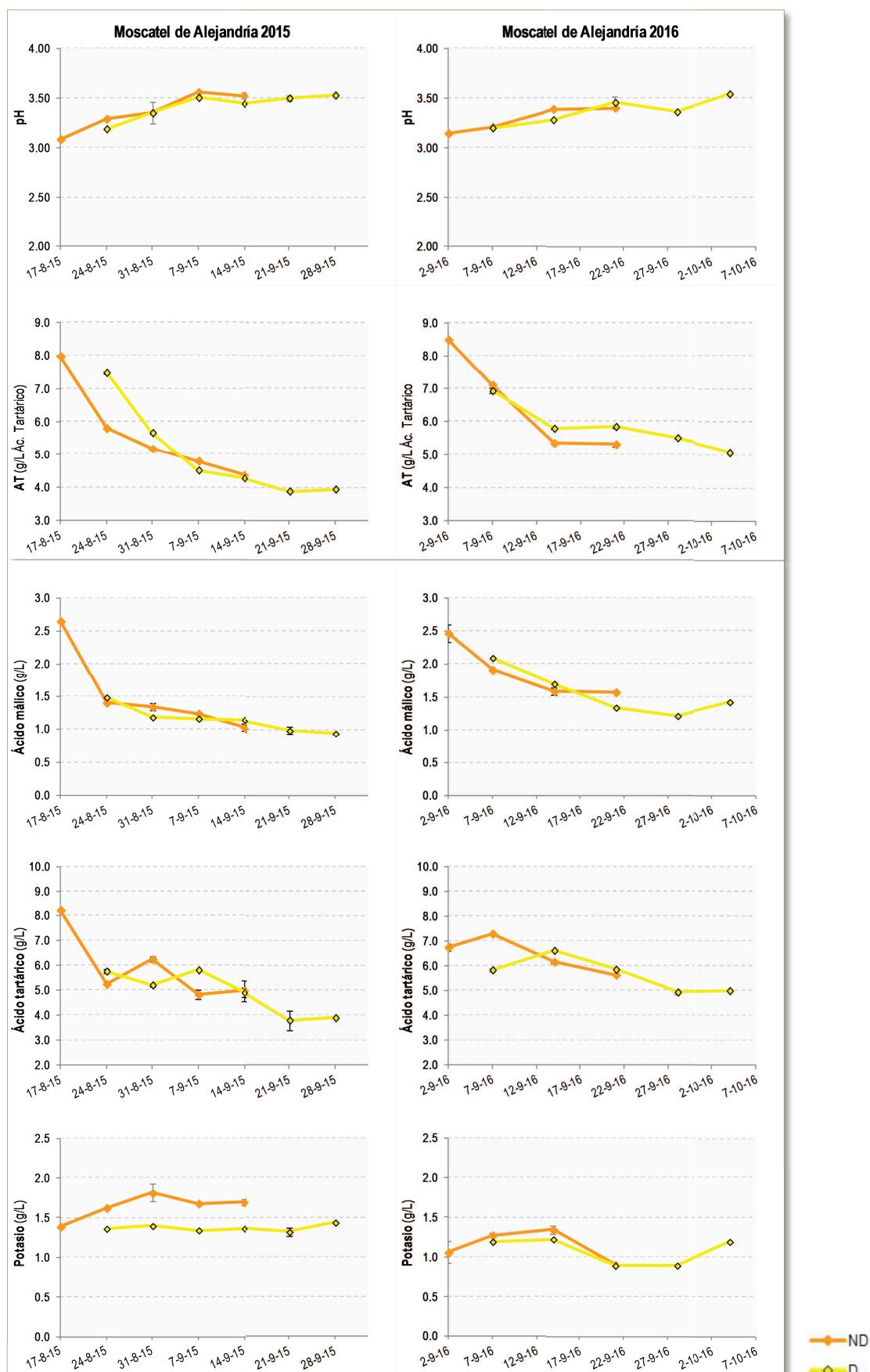


Figura 68. Evolución de los parámetros de pH, acidez titulable (AT), ácido málico, ácido tartárico y potasio de uvas Moscatel de Alejandria de cepas deshojadas (D) y no deshojadas (ND) en los años 2015 y 2016.

En el caso del Índice de Madurez Tecnológica (IMT) representado en la Figura 69, se muestra igualmente un retraso entre las uvas de cepas deshojadas respecto a las muestras sin deshojar y además los valores son ligeramente más bajos, lo que siempre es deseable en nuestro entorno donde la acidez de los mostos es escasa. Al final de maduración los valores son muy similares, pero si hubiera necesidad de recoger antes la uva, las muestras deshojadas presentaron unos valores de IMT más favorables.

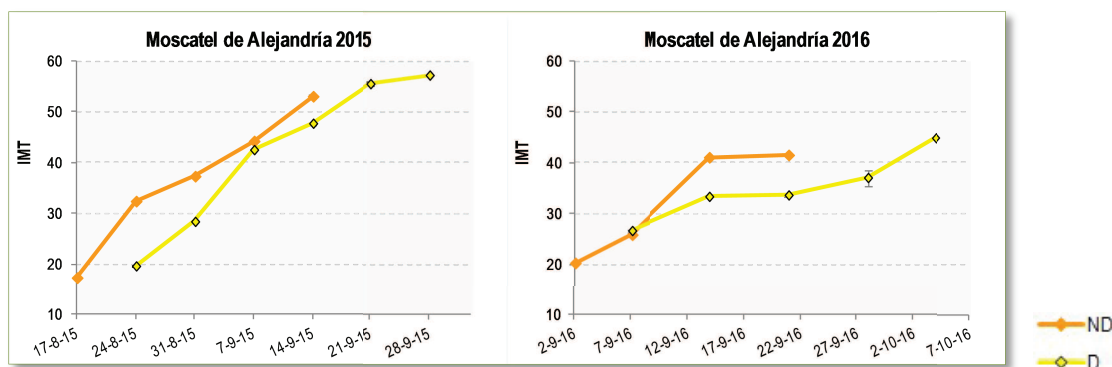


Figura 69. Evolución del Índice de Madurez Tecnológica (IMT) de uvas Moscatel de Alejandria de cepas deshojadas (D) y no deshojadas (ND) en los años 2015 y 2016.

2. Moscatel de Grano Menudo

La Figura 70 representa gráficamente la evolución de los azúcares y el peso de las bayas en la variedad Moscatel de Grano Menudo para el tratamiento de deshojado y control (sin deshojar) en los años 2015 y 2016. La acumulación de azúcares siguió una evolución creciente y constante a lo largo de la maduración exhibiendo un comportamiento distinto entre las muestras en las dos campañas. Se aprecia cómo el tratamiento de deshojado propició niveles de azúcares por debajo y por encima del control en 2015 y 2016 respectivamente. Según Kliewer et al. (1988), la mayor cantidad de luz que reciben los racimos deshojados junto con la naturaleza de la variedad, estimulan la actividad de diversas enzimas implicadas en la acumulación de azúcares. Así, parece que en la campaña 2016 el tratamiento de deshojado propició una más rápida acumulación de azúcares, como manifiesta la gráfica de evolución del °Brix. Además, el P_{50} y el número de bayas contenidas en 100 g difieren entre las muestras control y deshojadas al final de la maduración. Las bayas de las cepas deshojadas pesaban más que las no deshojadas debido a la acumulación de nutrientes, principalmente azúcares. En 2015 apenas se apreciaron diferencias en estos parámetros. En general, el deshojado causó poco efecto sobre el ritmo de la maduración en los dos años. En 2015 las uvas de cepas deshojadas se retrasaron ligeramente con respecto a las no deshojadas y en 2016 se dio el efecto contrario pero sin diferencias notables.

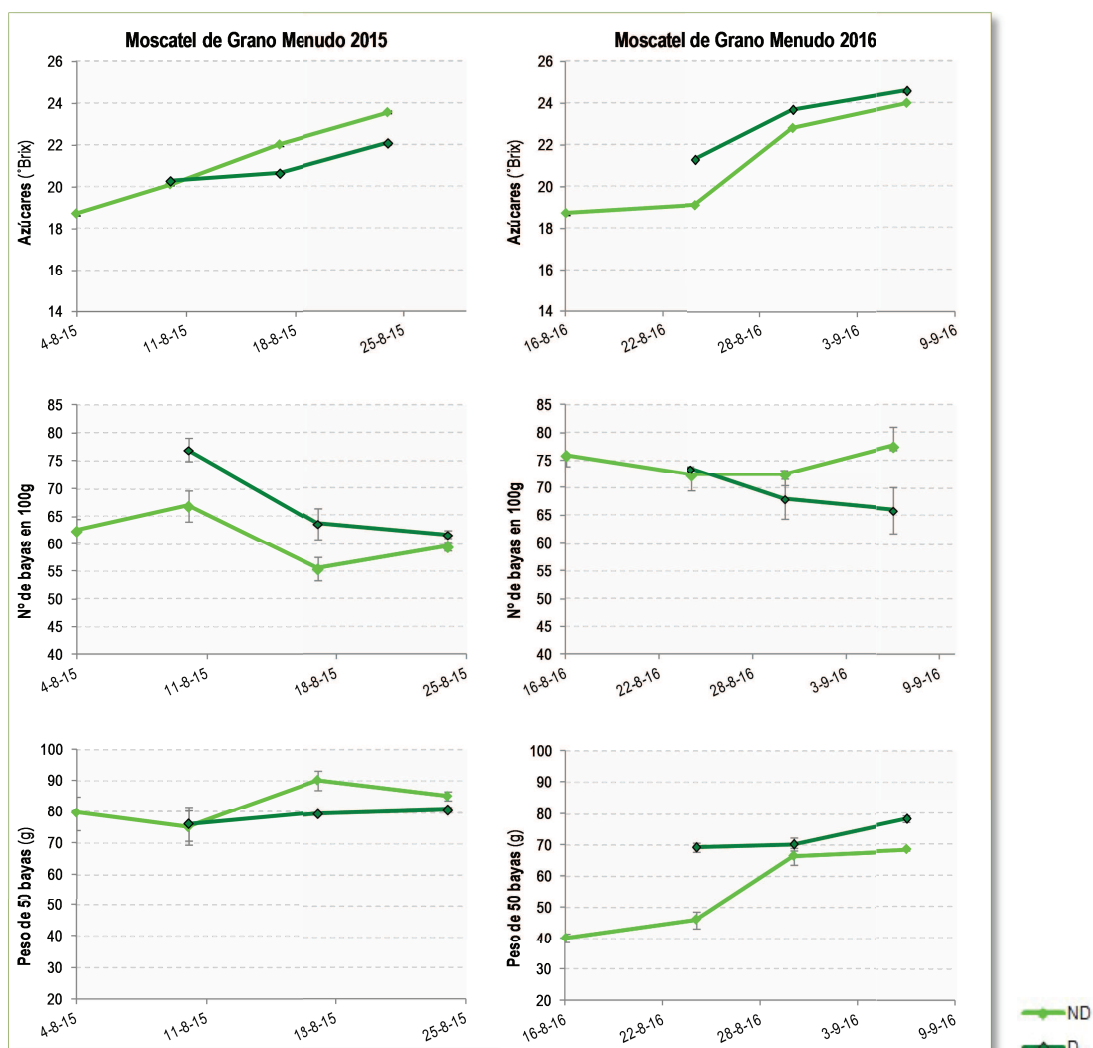


Figura 70. Evolución del contenido en azúcares, el número de bayas contenidas en 100 g y el peso (g) de 50 bayas durante la maduración de las uvas de la variedad Moscatel de Grano Menudo de cepas deshojadas (D) y no deshojadas (ND) en los años 2015 y 2016.

Los dos años de estudio manifestaron un descenso de la acidez y aumento del pH (Figura 71) a lo largo de la maduración siendo muy similar en las dos muestras, deshojada y no deshojada. Durante la vendimia de 2016, los parámetros de pH y acidez fueron ligeramente inferiores en las uvas de cepas deshojadas posiblemente por la mayor insolación y temperatura acumulada en los racimos. Asenjo et al. (2004) y Tardáguila et al. (2008) no encontraron diferencias en los niveles de pH y acidez titulable en sus ensayos pero Lavín y Pardo (2001) sí encontraron niveles superiores en las muestras deshojadas con respecto al testigo. Por otro lado, cabe destacar que en 2016, en el envero, las uvas de partida presentaron mayor concentración de los ácidos málico y tartárico en comparación con las de 2015, dicha diferencia resultó notable en el parámetro de acidez titulable (2,3 g/L de diferencia entre la acidez titulable en envero). El año 2016 tuvo temperaturas más bajas y mayores precipitaciones durante el periodo vegetativo (de abril a octubre) (Figura 76) que 2015 (267,8 y 135,2 mm de precipitación acumulada respectivamente). Es

sabido que las lluvias durante este periodo pueden favorecer un retraso en la maduración de las uvas y la acumulación de ácidos en la baya (Deluc et al. 2009).

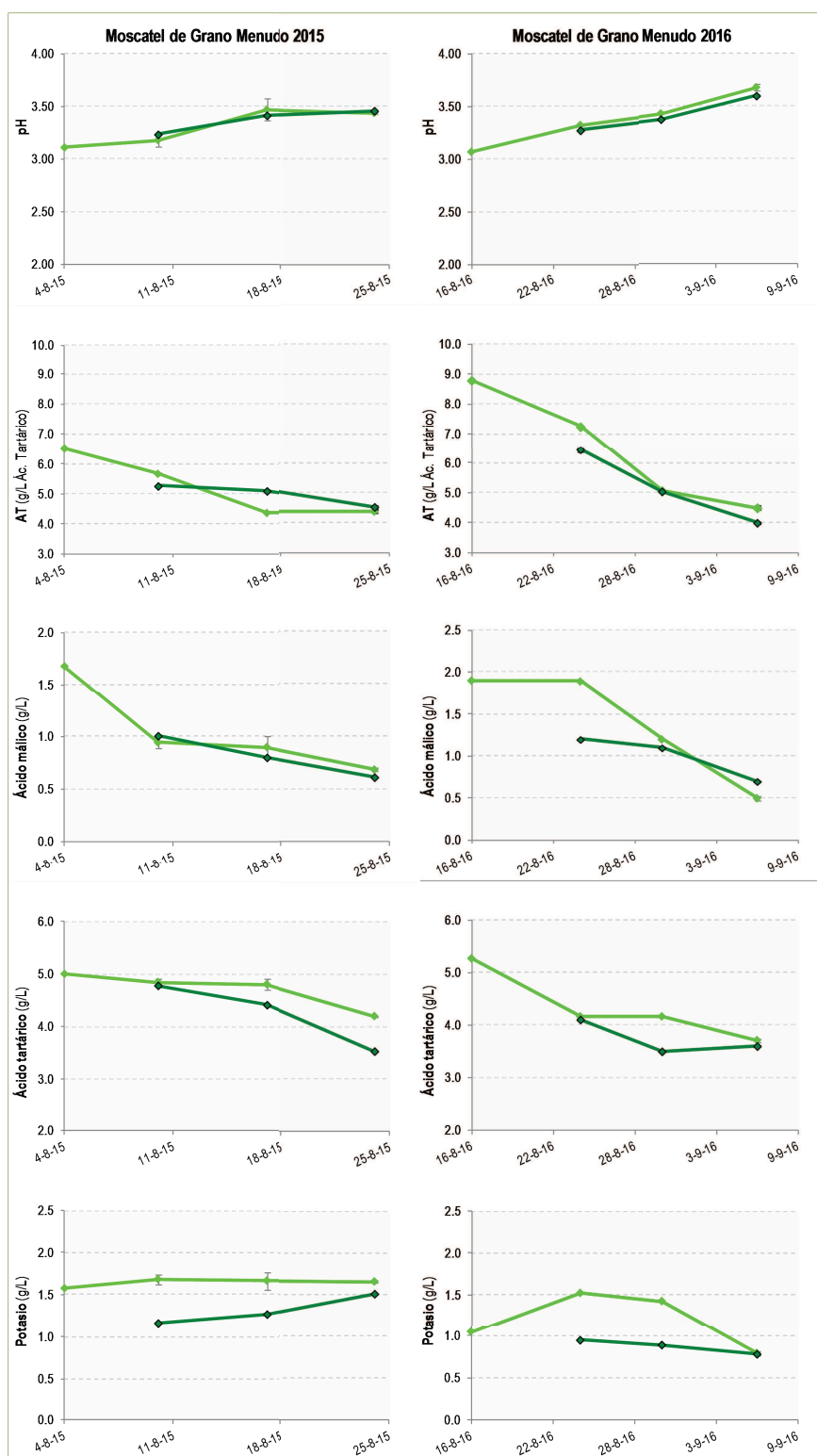


Figura 71. Evolución de los parámetros de pH, acidez titulable (AT), ácido málico, ácido tartárico y potasio de uvas Moscatel de Grano Menudo de cepas deshojadas (D) y no deshojadas (ND) en los años 2015 y 2016.

El Índice de Madurez Tecnológica representado en la Figura 72, muestra valores ligeramente más bajos en la muestra deshojada de 2015 con respecto a la control. En 2016 los valores son similares en los dos ensayos (D y ND). Al final de maduración, igual que ocurría con la variedad Moscatel de Alejandría, los valores fueron muy similares en los dos años de experimentación.

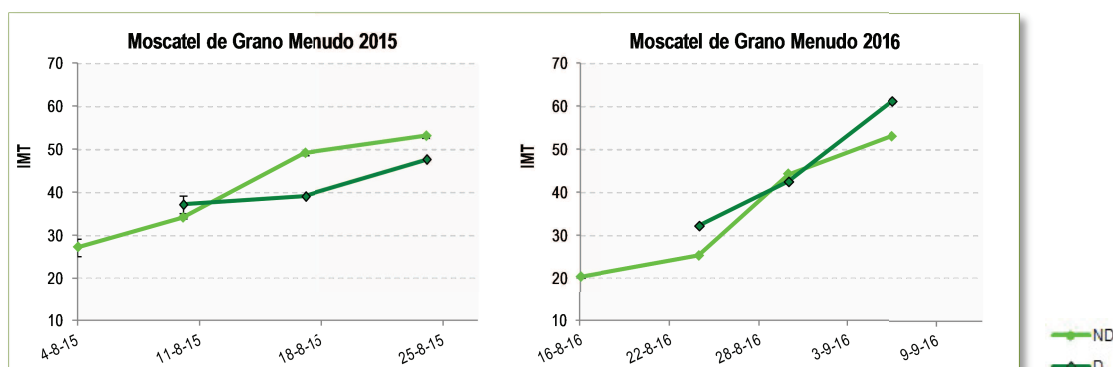


Figura 72. Evolución del Índice de Madurez Tecnológica (IMT) de uvas Moscatel de Grano Menudo de cepas deshojadas (D) y no deshojadas (ND) en los años 2015 y 2016.

3. Albillo Real

El seguimiento de la evolución de la maduración de la variedad Albillo se realizó durante las vendimias 2015 y 2016. Una tormenta de pedrisco durante la época de pre-verano en 2015 causó graves daños en el viñedo del paraje “La Mina” cuya evolución sufrió cierto retardo y se caracterizó por una escasez productiva en la cosecha y maduración anómala.

La evolución de los azúcares y el peso de las bayas vienen representados en la Figura 73. Los azúcares acumulados mostraron un crecimiento constante hasta el momento de la vendimia en los dos años tanto para las cepas tratadas como para los testigos. Las curvas de ambas muestras fueron muy similares en las dos cosechas. En 2016, la fecha de verano y vendimia se retrasó con respecto a 2015. Como se ha informado anteriormente, las lluvias registradas durante las primeras fases del periodo vegetativo así como temperaturas más suaves pueden retrasar la maduración (Figura 77). Además, durante esta cosecha, la acumulación de azúcares fue ligeramente más lenta en las cepas deshojadas con respecto a las no deshojadas. En 2015 la maduración de las uvas con y sin deshojado siguió una evolución muy similar sin mostrar diferencias notables. Se aprecia que los valores alcanzados han sido anómalos e inferiores a lo habitual para la variedad en la zona, derivado del daño por pedrisco.

El P_{50} aumentó en un primer momento en las dos muestras durante la vendimia de 2015 pero a partir de la segunda semana de muestreo comenzó a disminuir para mantenerse prácticamente constante al final de la maduración. La fecha de vendimia se fijó con menos concentración de azúcar de la deseada (20,6 y 20 °Brix en las uvas de cepas no deshojadas y deshojadas respectivamente) debido a que las bayas de las dos muestras comenzaban a presentar indicios de deshidratación. En 2016, las uvas de las cepas sin deshojar mostraron un incremento constante del P_{50} a lo largo de la maduración, sin embargo, las bayas de

las cepas deshojadas aumentaron en peso durante las dos primeras semanas para comenzar a disminuir progresivamente hasta el momento de la vendimia donde comenzaba a apreciarse pasificación en las bayas. De acuerdo con Asenjo et al. (2004), se pueden producir pérdidas de cosecha y un descenso en el peso de la baya por el fenómeno de pasificación que puede darse por temperaturas excesivamente altas que aumentan el metabolismo respiratorio de la planta desencadenando en una deshidratación severa de la baya. Este fenómeno es conocido como *shrinkage* ó bloqueo floemático. La baya comienza a disminuir de peso por efecto de la transpiración y como resultado aumenta el °Brix sin aumentar la cantidad de solutos totales en la baya (Coombe & McCarthy 2000). En consecuencia, el número de bayas contenidas en 100 g mostró el comportamiento antagónico esperado al P₅₀ en las dos vendimias.

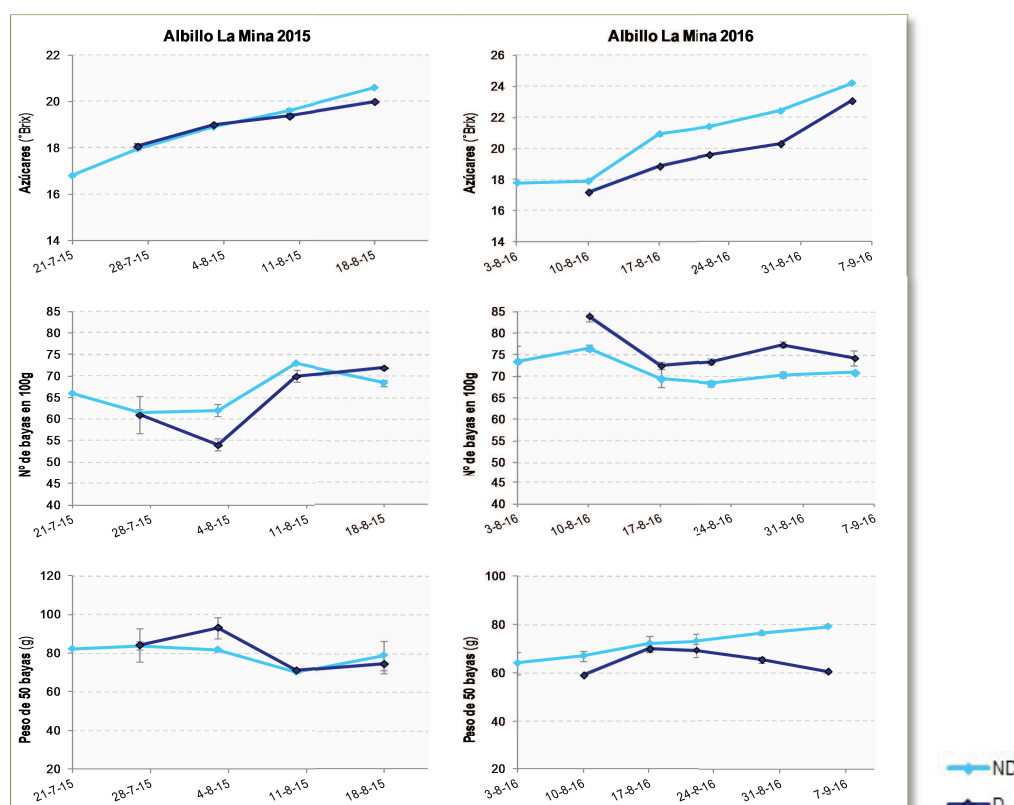


Figura 73. Evolución del contenido en azúcares, número de bayas contenidas en 100 g y el peso (g) de 50 bayas durante la maduración de uvas Albillo de cepas deshojadas(D) y no deshojadas (ND) en los años 2015 y 2016.

La acidez de las uvas disminuyó y el pH aumentó a medida que progresaba la maduración en las dos muestras (deshojadas y no deshojadas) mostrando un comportamiento diferente en los dos años de estudio (Figura 74). En 2015 los parámetros de acidez fueron superiores y los de potasio y pH inferiores en la muestra no deshojada sin apreciarse diferencias notables en las últimas semanas de muestreo con respecto a la deshojada. Sin embargo, en 2016 fueron las uvas de las cepas deshojadas las que mostraron los niveles más favorables de pH y acidez titulable a lo largo de la maduración para terminar igualándose a los valores de la muestra control en el momento de la vendimia. Kliewer et al. (1988) informaron que un pH

más bajo en las uvas de vides deshojadas puede justificarse por la mayor insolación que reciben los racimos. De acuerdo con este mismo autor (Kliewer & Antcliff 1970), la mayor acidificación de las bayas de cepas deshojadas guarda relación directa con un proceso de maduración más lento, esto explicaría por qué en 2016, donde se observa una adquisición de azúcares más pausada por parte de las uvas con tratamiento de deshojado, se aprecia también un ligero retraso en la pérdida de acidez, hecho que también se muestra en la Figura 75 donde se representa el IMT de las dos vendimias. Al final de la maduración los valores tienden a igualarse en los dos años de estudio obteniendo los niveles más favorables las muestras deshojadas de la vendimia 2016.

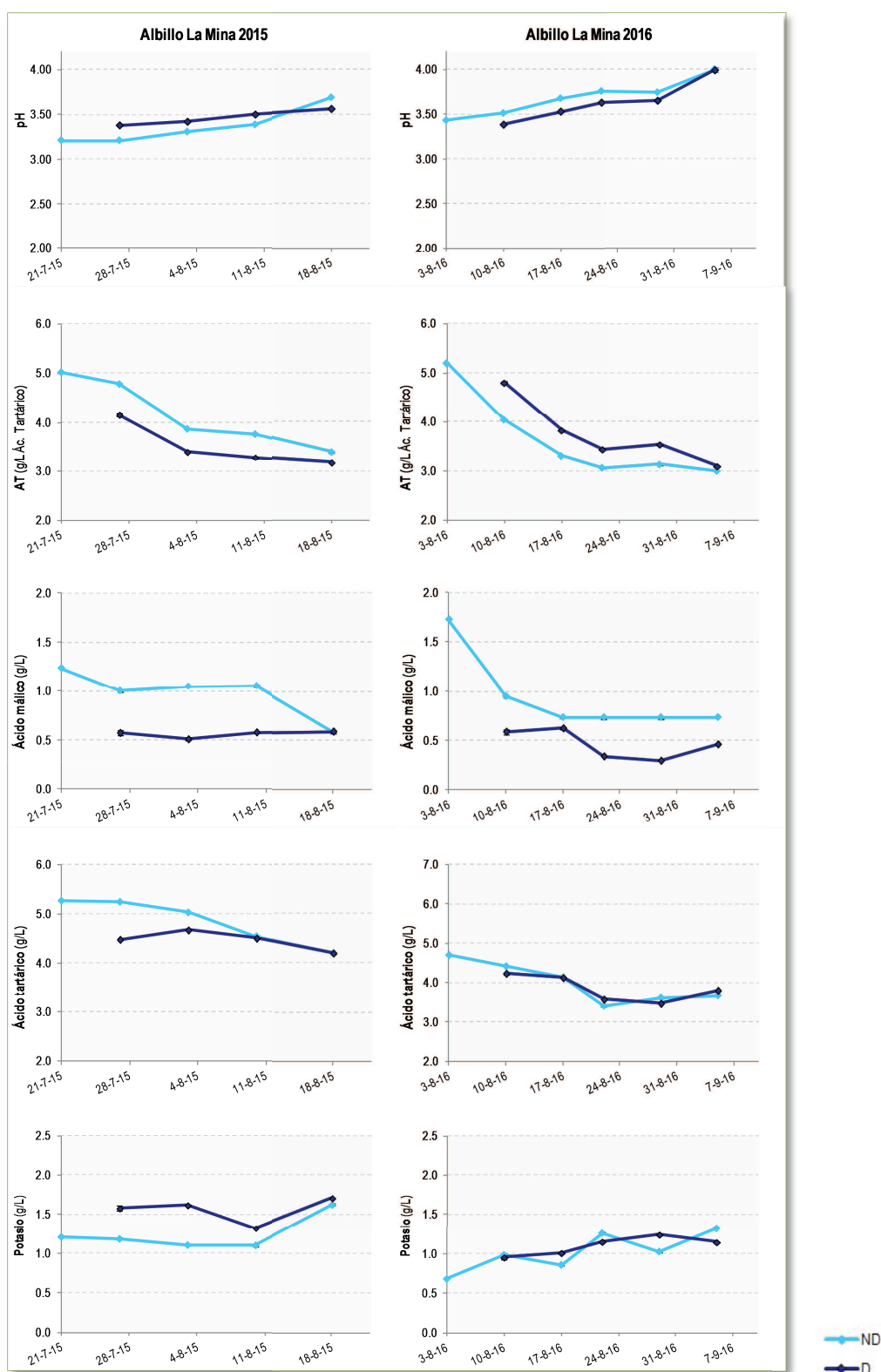


Figura 74. Evolución de los parámetros de pH y acidez titulable (AT) de uvas Albillo de cepas deshojadas (D) y no deshojadas (ND) en los años 2015 y 2016.

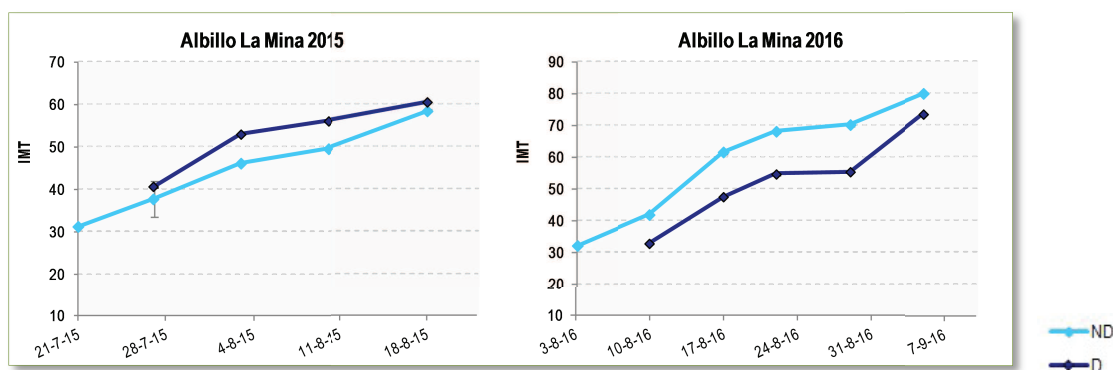


Figura 75. Evolución del Índice de Madurez Tecnológica (IMT) de uvas Albillo de cepas deshojadas (D) y no deshojadas (ND) en los años 2015 y 2016.

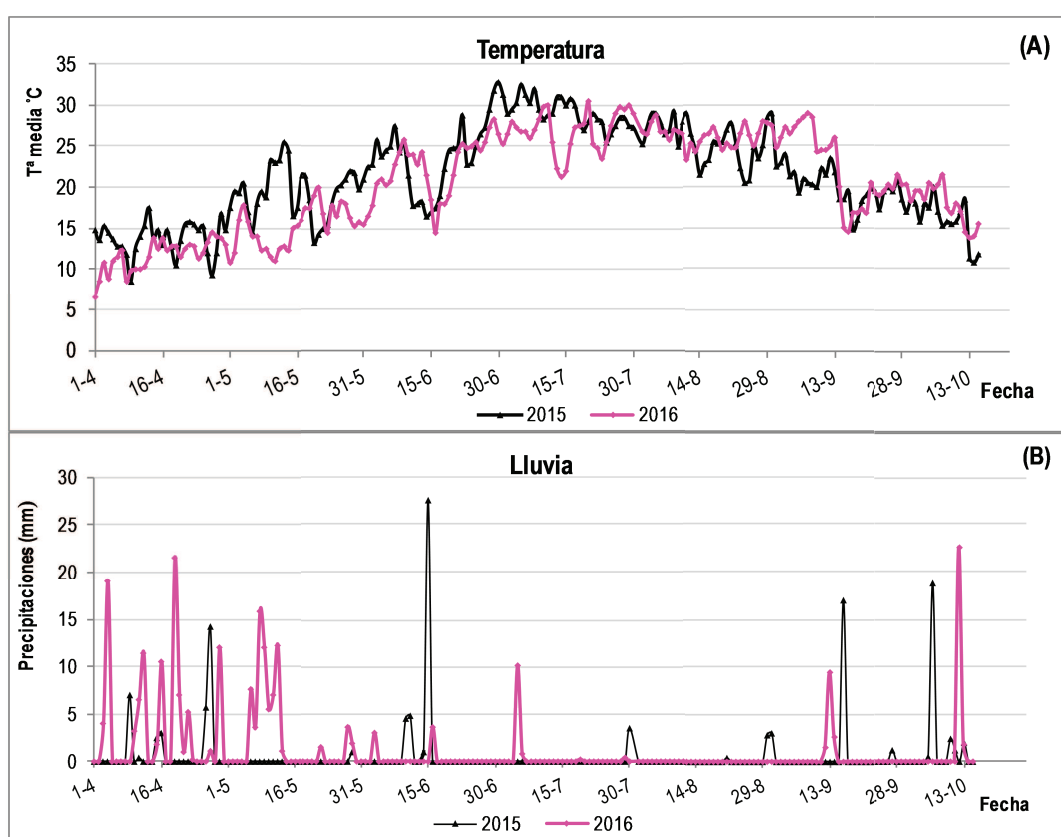


Figura 76. Evolución de la temperatura media (A) y precipitaciones (B) de abril a octubre en 2015 y 2016 (estación meteorológica de la Finca “El Encín”)

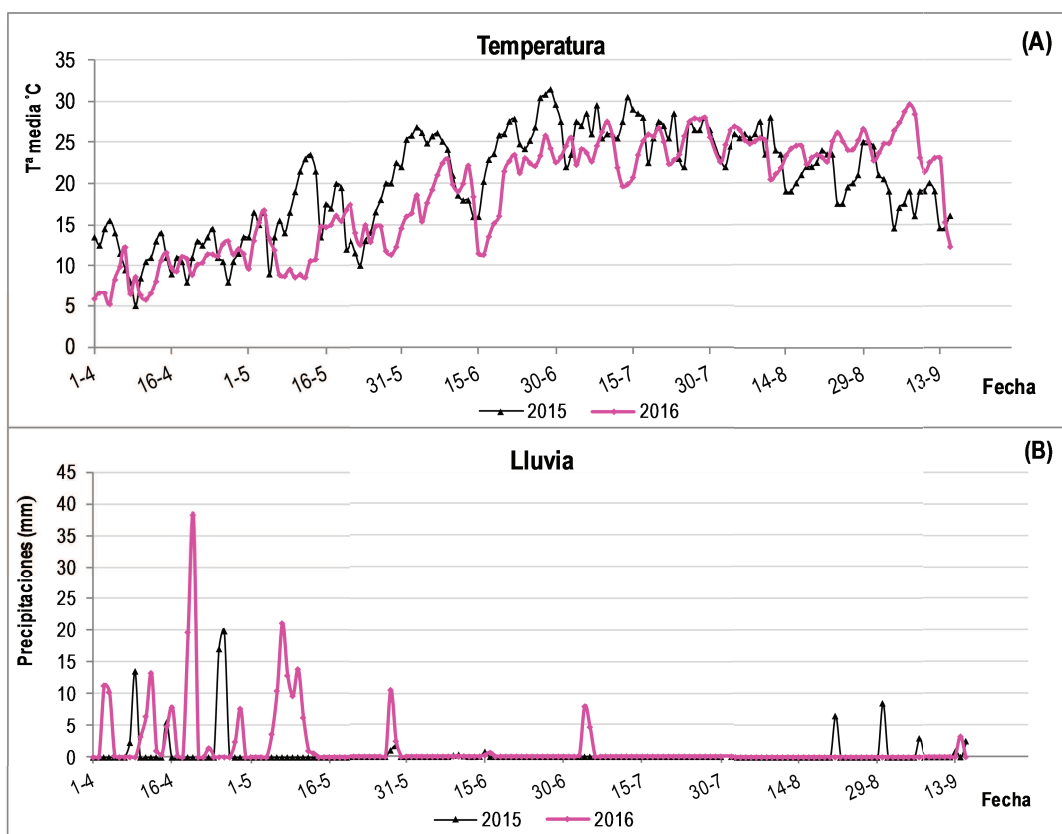


Figura 77. Evolución de la temperatura media (A) y precipitaciones (B) de abril a octubre en 2015 y 2016 (estación meteorológica de Rozas de Puerto Real).

En general, se produjo un retraso en la maduración tecnológica de las tres variedades empleadas para este estudio en la vendimia 2016 con respecto a 2015. Dicho retraso, de aproximadamente dos semanas, podría explicarse por las mayores precipitaciones acumuladas registradas a lo largo del periodo vegetativo y a las temperaturas más suaves durante los meses de abril a julio en 2016 (Figuras 76 y 77) (los datos de precipitación y temperaturas medias registrados por las estaciones meteorológicas de la Finca “El Encín” y Rozas de Puerto Real durante el periodo vegetativo de las vendimias 2015 y 2016 para los viñedos de este estudio se muestran en las Tablas 3 y 4 de materiales y métodos recogidas en el apartado VI.2.2). Estudios previos han informado acerca del efecto de las precipitaciones sobre el retraso de la floración y el envero (Jones & Davis 2000). Además, la elevada radiación solar junto con las altas temperaturas son factores que tienen gran importancia sobre el desarrollo de la maduración de las uvas (Bergqvist et al. 2001; Coelho et al. 2006). Siguiendo esta línea, se ha sugerido que la luz solar es un activador de la maduración, modulando así el perfil metabólico de las bayas activando la síntesis y acumulación de compuestos en el hollejo (como azúcares, ácidos y aminoácidos) (Carbonell-Bejerano & Diago 2014). De acuerdo con un estudio realizado por Adams (2006), para cualquier viñedo, si las variables vitivinícolas permanecen constantes (sistema de poda, riego etc.), las diferencias climáticas tendrán un efecto determinante en la maduración y calidad de los frutos. En nuestro trabajo, la aplicación del deshojado de 8 hojas basales durante el envero supuso un retraso en la adquisición de azúcares por la baya durante la maduración en

Moscatel de Alejandría (variedad de maduración más tardía que Moscatel de Grano Menudo y Albillo Real) mientras que en Moscatel de Grano Menudo el efecto sobre el ritmo de la maduración fue escaso, solo se apreció un ligero retraso en la vendimia de 2015. En 2016 las muestras deshojadas siguieron un ritmo similar a las no deshojadas llegando incluso a madurar antes. En la variedad Albillo no se apreciaron diferencias entre las muestras deshojadas y no deshojadas durante la maduración en 2015 probablemente condicionada por los daños sufridos por el viñedo tras la tormenta de pedrisco; en 2016 el deshojado supuso un retraso en la ganancia de azúcares por las bayas que comenzaban a presentar pasificación en el momento de la vendimia. De acuerdo con algunos autores, el impacto de la eliminación de las hojas sobre la maduración de las uvas resulta una técnica controvertida debido a que puede variar entre vendimias y depende de la severidad de aplicación. Así, Bubola et al. (2009) informaron sobre el aumento de 1 °Brix tras la eliminación de las hojas basales en el envero en la variedad Malvasía mientras que el mismo tratamiento aplicado en otras variedades no afectó al contenido en sólidos solubles (Bledsoe & Kliewer 1988; Tardáguila et al. 2008).

No se han apreciado diferencias notables en los parámetros tecnológicos de madurez (pH, acidez titulable e IMT) en el momento de la vendimia entre las uvas de deshoje y no deshoje en ninguna de las variedades, los valores fueron similares al final del proceso, por tanto, el tratamiento de deshojado no ha sido inconveniente para una adecuada maduración.

VII.3.1.2. Influencia sobre la composición química de mostos y vinos

La influencia del deshojado precoz en la calidad de la uva se refleja en la composición físico-química del mosto, y se puede evaluar a partir de los parámetros de azúcares, grado alcohólico probable, pH, acidez titulable, ácido tartárico, ácido málico, NFA y potasio en vendimia.

Los valores de la composición química de los mostos, sin haberse realizado las correspondientes correcciones de pH y acidez, de las vendimias 2015 y 2016 para las tres variedades de estudio con y sin tratamiento de deshojado se representan en la Tabla 31. Entre cada variedad, se encontraron pocas diferencias en cuanto a la composición de los mostos para las muestras de plantas deshojadas y las control en la misma vendimia en los parámetros de pH, acidez titulable, ácido tartárico, ácido málico, potasio y nitrógeno fácilmente asimilable (NFA) (en ausencia de réplicas no se hicieron análisis de significación estadística).

La acidez mostró cierta tendencia a disminuir debido al deshojado y se manifestó en un descenso de la acidez titulable y los ácidos tartárico y málico. En casi todos los mostos los valores de acidez resultaron inferiores a los deseados para el desarrollo de la fermentación por lo que fueron corregidos con ácido tartárico hasta valores en torno a 5-6 g/L de acidez titulable. El pH apenas mostró variaciones a excepción de la muestra deshojada de Menudo en la vendimia 2016 cuyo valor de resultó inferior a la muestra control. Las concentraciones de potasio disminuyeron con el deshojado en Moscatel de Grano Menudo en las dos campañas, sin embargo, en Moscatel de Alejandría y Albillo no se apreciaron variaciones.

El NFA resultó inferior en los mostos de deshojado en la variedad Moscatel de Alejandría y aumentó en Moscatel de Grano Menudo pero no tuvieron trascendencia. Moscatel de Alejandría en el año 2016 presentó unos niveles de NFA por encima de los recomendados para un correcto desarrollo de la fermentación (130-140 mg/L) (Hernandez Orte et al. 1998). El efecto del deshojado no causó grandes pérdidas en la asimilación de nutrientes. Con relación a este parámetro, cabe destacar los niveles más que deseables de los mostos de Albillo en las dos cosechas. El comportamiento de las muestras deshojadas supuso un aumento del NFA en la vendimia de 2015 y disminución en 2016, sin embargo, al igual que ocurría con Moscatel de Alejandría, estas pérdidas no fueron importantes.

Como se describió en el apartado relativo a maduración, de acuerdo con la fecha de vendimia y el contenido en azúcares (°Brix), se observa cómo el deshojado supuso un retraso en la adquisición de azúcares en la variedad Moscatel de Alejandría en los dos años de estudio y en Albillo (La Mina) en el año 2016. En todas las variedades, en las dos campañas, el tratamiento no modificó el contenido final en azúcares y su correspondiente grado alcohólico probable.

Nuestros resultados están de acuerdo con estudios previos en climas fríos (Kemp et al. 2011; King et al. 2012; Feng et al. 2015) y regiones de clima cálido (Matus et al. 2009; Chorti et al. 2010; Tardaguila et al. 2010), donde el deshojado causó poco impacto en la composición química de los mostos en el momento elegido para la vendimia. Por tanto, estos resultados sugieren que la acumulación de azúcares, pH y acidez estarían más influenciados por la interacción ambiental y la vid que por la exposición del racimo.

Tabla 31. Composición química de mostos de las variedades Moscatel de Alejandría (A), Moscatel de Grano Menudo (MEN) y Albillo (MIN) en las vendimias 2015 (15) y 2016 (16) con y sin tratamiento de deshojado (D).

Variedad y tratamiento	Fecha de vendimia	Azúcares (°Brix)	Grado alcohólico probable (GAP)	pH	Acidez titulable (g/L Ác. Tartárico)	Ácido tartárico (g/L)	Ácido málico (g/L)	Potasio (g/L)	NFA (mg/L)
A 15	15/09/2015	22,4	13,0	3,30	4,8	5,1	1,3	1,3	106,4
AD 15	30/09/2015	22,8	13,1	3,38	4,1	4,8	1,0	1,3	78,4
A 16	21/09/2016	21,0	12,0	3,37	5,3	4,5	1,7	1,1	146,4
AD 16	07/10/2016	21,9	12,5	3,38	5,0	4,3	1,2	1,1	131,8
MEN 15	25/08/2015	22,6	13,0	3,50	3,5	3,5	0,6	1,2	78,4
MEND 15	25/08/2015	22,0	12,6	3,49	3,5	3,2	0,7	1,0	89,6
MEN 16	08/09/2016	24,6	14,4	3,50	3,4	4,8	1,1	0,8	76,3
MEND 16	07/09/2016	24,1	14,0	3,36	3,4	3,6	0,8	0,7	80,1
MIN 15	18/08/2015	21,1	12,4	3,41	3,2	5,7	0,6	1,1	212,8
MIND 15	18/08/2015	20,6	12,1	3,51	2,9	5,0	0,6	1,1	224,0
MIN 16	06/09/2016	23,6	13,9	4,00	3,0	3,7	0,7	1,3	315,4
MIND 16	09/09/2016	23,4	13,8	3,91	2,6	3,8	0,5	1,3	287,3

La Tabla 32 muestra el efecto del deshojado sobre la composición química de los vinos. Los resultados del análisis de la varianza revelaron diferencias entre las muestras de deshojado y control para pH, potasio, ácido málico y tartárico. Recordemos que los mostos fueron corregidos con ácido tartárico antes de comenzar a fermentar debido a que los niveles resultaron insuficientes para el correcto desarrollo de la fermentación. El año resultó significativo para los parámetros pH, acidez titulable, potasio y ácido tartárico. Por último, el factor variedad causó mayor influencia que el tratamiento y el año exhibiendo

diferencias entre todos los parámetros a excepción del potasio. También que analizó el efecto de las interacciones posibles entre los tres factores (tratamiento, variedad y año). Como se muestra en la Tabla 32, los parámetros afectados por la interacción variedad*tratamiento fueron más que los afectados por año*tratamiento y año*variedad. Por tanto, la variedad influye significativamente sobre los parámetros generales e interactúa con el tratamiento para determinar la composición química de los vinos.

Tabla 32. Composición química vinos de las variedades Moscatel de Alejandría (A), Moscatel de Grano Menudo (MEN) y Albillo (MIN) en las vendimias 2015 (15) y 2016 (16) con tratamiento de deshojado (D) y sin deshojado (media \pm dv) (n=3).

Variedad y tratamiento	Grado alcohólico (% v/v)	pH	Acidez titulable (g/L ác. tartárico)	Acidez volátil (mg/L)	Potasio (g/L)	Ácido málico (g/L)	Ácido tartárico (g/L)
A15	12,8 \pm 0,1	3,18 \pm 0,03	5,1 \pm 0,2	0,4 \pm 0,0	1,2 \pm 0,0	1,1 \pm 0,1	5,1 \pm 0,3
A15 D	13,2 \pm 0,1*	2,97 \pm 0,05**	5,4 \pm 0,1*	0,3 \pm 0,0*	0,6 \pm 0,0***	0,9 \pm 0,3	4,7 \pm 0,5
A16	11,6 \pm 0,3	3,08 \pm 0,02	5,7 \pm 0,4	0,4 \pm 0,0	0,6 \pm 0,1	1,4 \pm 0,1	4,1 \pm 0,1
A16 D	11,4 \pm 0,1	3,10 \pm 0,01**	5,8 \pm 0,2	0,5 \pm 0,0	0,6 \pm 0,0	1,0 \pm 0,1*	3,9 \pm 0,3
MEN15	13,9 \pm 0,4	3,01 \pm 0,05	6,2 \pm 0,4	0,3 \pm 0,0	1,0 \pm 0,0	0,8 \pm 0,0	5,8 \pm 0,0
MEN15 D	13,4 \pm 0,4	3,02 \pm 0,05	6,4 \pm 0,3	0,4 \pm 0,0	1,0 \pm 0,0	0,8 \pm 0,0	6,1 \pm 0,1
MEN16	13,7 \pm 0,0	3,14 \pm 0,03	5,6 \pm 0,4	0,6 \pm 0,0	0,7 \pm 0,1	0,7 \pm 0,1	3,5 \pm 0,3
MEN16 D	13,7 \pm 0,0	3,17 \pm 0,02	5,3 \pm 0,1	0,5 \pm 0,0*	0,8 \pm 0,1	0,7 \pm 0,1	4,3 \pm 0,1*
MIN15	12,7 \pm 0,2	2,94 \pm 0,02	5,4 \pm 0,0	0,4 \pm 0,0	1,0 \pm 0,0	0,5 \pm 0,0	4,9 \pm 0,2
MIN15 D	12,3 \pm 0,0	2,76 \pm 0,01**	7,0 \pm 0,0	0,3 \pm 0,0	0,9 \pm 0,0	0,5 \pm 0,0	6,2 \pm 0,0***
MIN16	12,8 \pm 0,2	3,23 \pm 0,01	5,2 \pm 0,0	0,5 \pm 0,0	0,8 \pm 0,2	0,6 \pm 0,1	5,0 \pm 0,1
MIN16 D	12,7 \pm 0,1	3,22 \pm 0,02	4,8 \pm 0,1**	0,3 \pm 0,0	0,8 \pm 0,1	0,5 \pm 0,1*	4,7 \pm 0,3
ANOVA	Grado alcohólico (% v/v)	pH	Acidez titulable (g/L ác. tartárico)	Acidez volátil (mg/L)	Potasio (g/L)	Ácido málico (g/L)	Ácido tartárico (g/L)
Tratamiento	Ns	***	Ns	Ns	*	*	**
Año	Ns	***	***	Ns	**	Ns	***
Variedad	***	***	***	*	Ns	***	***
A*Tr	Ns	**	***	Ns	Ns	Ns	**
A*Var	Ns	***	Ns	**	Ns	Ns	***
Var*Tr	*	***	**	Ns	**	Ns	**

Test de Tukey con niveles de significancia: *, **, *** significación al $p < 0,05$, $p < 0,01$, $p < 0,001$ respectivamente. Ns: no significativo

El deshojado causó mayor efecto sobre la variedad Moscatel de Alejandría en 2015. Los vinos deshojados presentaron mayor grado alcohólico y acidez titulable y menor pH, acidez volátil y potasio. Resultados similares fueron encontrados por otros autores donde el deshojado indujo un mayor contenido alcohólico debido a la mayor adquisición de azúcares en la baya (Dokoozlian & Kiewer 1996; Poni et al. 2006; Verzera et al. 2016). En 2016 las muestras deshojadas presentaron un pH ligeramente superior y menor concentración de ácido málico. En Moscatel de Grano Menudo el tratamiento apenas causó efecto

sobre la composición química de los vinos en 2015, en 2016 las muestras de deshojado tuvieron menor acidez volátil y mayor contenido en ácido tartárico. En cuanto a la variedad Albillo, los vinos de deshojado obtuvieron menor pH y mayor contenido en ácido tartárico en 2015 y menor acidez titulable y ácido málico en 2016. Los resultados de un estudio realizado por (Kozina et al. 2008) indicaron que el deshojado de hojas basales tenía distinto efecto en la composición química y calidad de los vinos dependiendo de la variedad en la que se ensayase. En Sauvignon Blanc, el deshojado redujo el contenido de ácido tartárico y málico y en Riesling solo tuvo influencia sobre el ácido tartárico.

VII.3.1.3. Influencia sobre la composición aromática

VII.3.1.3.1. Potencial aromático varietal a lo largo de la maduración

La supresión de algunas hojas basales de los pámpanos puede influir sobre la disponibilidad de azúcares limitando el metabolismo de la planta y por tanto determinando la calidad de la uva producida (Poni et al. 2005). De acuerdo con varios autores, el deshojado pasado el envero parece favorecer la ruptura de carotenoides liberando norisoprenoides (Marais et al. 1992; Lee et al. 2007; Ristic et al. 2007) así como la síntesis de monoterpenos en su forma libre y conjugada (Reynolds & Wardle 1989; Zoecklein et al. 1998; Kozina et al. 2008).

Con el propósito de determinar la influencia del deshojado sobre la síntesis de precursores aromáticos glicosilados, se llevó a cabo un análisis de muestras de uvas de Moscatel de Alejandría, Moscatel de Grano Menudo y Albillo tomadas durante las cuatro semanas anteriores a la vendimia de 2015.

La Figura 78 muestra los valores de IPAv para las uvas de Moscatel de Alejandría con tratamiento de deshojado (AD) y sin deshojar (A). Se observó un retraso, ya comentado, en la acumulación de precursores en las uvas tratadas con un nivel ligeramente superior al encontrado para las muestras control coincidiendo con los resultados obtenidos por Zoecklein et al. (1998). En el momento de vendimia, al igual que ocurría con los parámetros de maduración, los valores de IPAv se igualaron en las dos muestras.

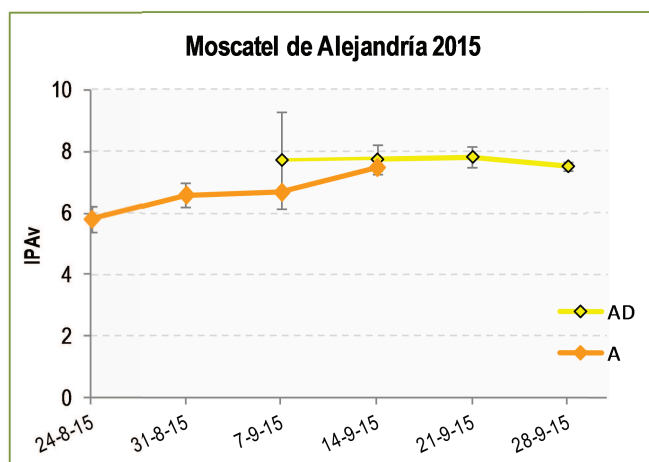


Figura 78. IPAv de uvas Moscatel de Alejandría (A) a lo largo de la maduración con tratamiento de deshojado (D) y sin deshojar.

En cuanto a la Moscatel de Grano Menudo (Figura 79), los resultados solo mostraron diferencias al final de la maduración, donde las uvas sin deshojar presentaron valores más altos de IPAv con respecto a las deshojadas en consonancia con el ritmo de acumulación de azúcares ($^{\circ}$ Brix). Las uvas Albillo (Figura 80) no mostraron diferencias significativas a lo largo de la maduración, la muestra sin deshojar obtuvo unos valores ligeramente superiores a los de las uvas deshojadas.

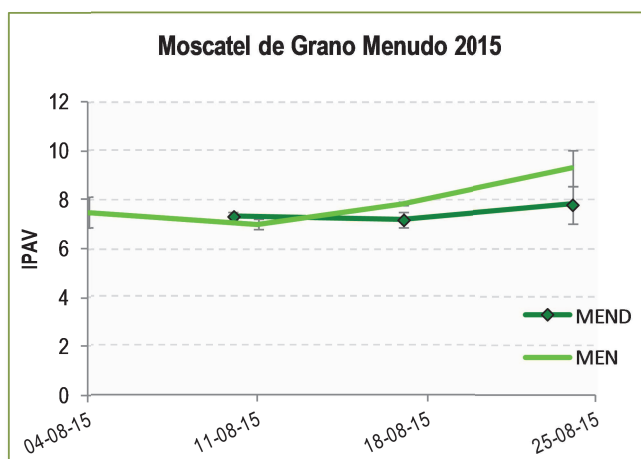


Figura 79. IPAv de uvas Moscatel de Grano Menudo (MEN) a lo largo de la maduración con tratamiento de deshojado (D) y sin deshojar.

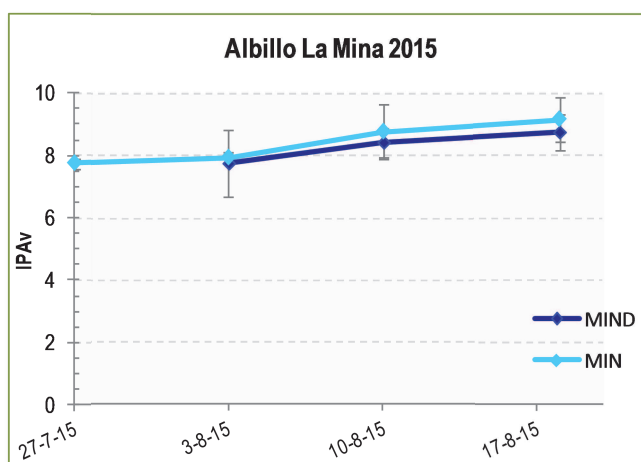


Figura 80. IPAv de uvas Albillo (MIN) a lo largo de la maduración con tratamiento de deshojado (D) y sin deshojar.

El distinto comportamiento mostrado entre las tres variedades para el mismo tratamiento de deshojado sugiere que la acumulación de precursores aromáticos a lo largo de la maduración está fuertemente relacionada con la variedad que a su vez estará influenciada por el microclima creado al realizar el deshojado. Se puede concluir que el deshojado no ha supuesto disminución en el parámetro de IPAv respecto a las plantas testigo al no haber diferencias excepto al final en Moscatel de Grano Menudo.

Estas tendencias habrán de confirmarse en años sucesivos.

VII.3.1.3.2. Composición volátil de los vinos

Se realizó un análisis de la varianza para estudiar el efecto del deshojado en el perfil aromático varietal, donde se comparaban las muestras control con las deshojadas en el año 2015 para cada variedad. Los resultados expresados en $\mu\text{g/L}$ se muestran en la Tabla 33. El ANOVA muestra el efecto del tratamiento en el 77% de los aromas varietales identificados y cuantificados en los vinos de Moscatel de Alejandría (Tabla 33a). Los resultados manifiestan diferencias significativas en todos los compuestos tras el tratamiento con deshojado a excepción del geraniol y β -damascenona. Entre los que más se incrementaron destacan el linalol, α -terpineol y β -citronelol, que presentaron un aumento de más del triple el primero y más del doble α -terpineol y β -citronelol en los vinos de cepas deshojadas coincidiendo con estudios previos de deshojado de 8 hojas basales en las variedades Riesling y Sauvignon blanc (Kozina et al. 2008). Estos compuestos se encuentran entre los principales contribuyentes que determinan el aroma típico de las variedades Moscatel confiriendo atributos florales (Ribéreau-Gayon et al. 1975; Bayonove 1993). En los vinos de Moscatel de Grano Menudo (Tabla 33b) apenas se apreciaron variaciones en el contenido de aromas varietales. Se observó una tendencia al aumento en alguno de los compuestos (β -mirceno, α -terpineno, limoneno, γ -terpineno y β -citronelol) y al descenso en otros (linalol, α -terpineol, geraniol y β -damascenona) pero sin diferencias significativas. En la variedad Albillo, como cabía esperar por no ser una variedad aromática, apenas hay presencia de aromas varietales o están en muy baja concentración. Los niveles de terpenos y C13-norisoprenoides tienden a ser más bajos en vinos de variedades neutras, como es el caso de Albillo (Tabla 33c) (Sánchez-Palomo et al. 2007a), aún así, el deshojado ha supuesto un incremento significativo en el total de compuestos volátiles varietales encontrados.

De acuerdo con algunos autores (Asenjo et al. 2004; Skinkis et al. 2010), la acumulación de sustancias aromáticas en la baya se ve favorecida por una mayor exposición de los racimos. Reynolds y Wardle (1989) encontraron un aumento en la concentración de terpenos en racimos de cepas deshojadas en la variedad Gewuztraminer; la síntesis de precursores aromáticos se vio favorecida por la exposición de los racimos y estuvo estrechamente relacionada con los patrones de acumulación de azúcares en la baya. De acuerdo con este hecho, nuestros resultados para la variedad Moscatel de Alejandría sugieren que la mayor acumulación de terpenos en las bayas se habría visto favorecida por el ritmo de maduración más lento en las cepas deshojadas posiblemente como consecuencia de la ralentización de los procesos metabólicos de biosíntesis de precursores de aromas durante las etapas de desarrollo de la baya. En un estudio realizado por Hernandez-Orte et al. (2014) para distintas variedades blancas también informaron que los vinos procedentes de uvas de cepas deshojadas alcanzaron los mayores niveles en la concentración total de terpenos libres con respecto a los controles.

En cuanto a los vinos de Moscatel de Grano Menudo y Albillo, donde no se observaron diferencias durante la maduración en el ritmo de acumulación de azúcares, y sólo se apreció un descenso en la acumulación de precursores aromáticos al final de la maduración en las uvas de cepas deshojadas de Moscatel de Grano Menudo, no se apreció efecto significativo sobre la concentración de aromas varietales liberados en ninguno de los vinos.

Tabla 33. Concentraciones de compuestos aromáticos varietales ($\mu\text{g/L}$) en vinos de Moscatel de Alejandría (A) (a), Moscatel de Grano Menudo (MEN) (b) y Albillo (MIN) (c) en la vendimia 2015 con tratamiento de deshojado (D) y sin deshojado (media \pm dv) (n=3).

(a) Moscatel de Alejandría			
Compuestos ($\mu\text{g/L}$)	A	AD	Sig. ^a
β -Mirceno	0,93 \pm 0,19	4,22 \pm 0,67	**
α -Terpineno	Tr	0,43 \pm 0,02	***
Limoneno	0,80 \pm 0,02	3,44 \pm 0,41	***
γ -Terpineno	0,44 \pm 0,16	1,98 \pm 0,34	**
Linalol	82,88 \pm 1,15	269,72 \pm 57,68	**
α -Terpineol	26,84 \pm 0,60	61,18 \pm 6,99	**
β -Citronelol	3,50 \pm 0,32	7,02 \pm 1,29	*
Geraniol	21,56 \pm 1,19	27,70 \pm 3,92	Ns
β -Damascenona	0,91 \pm 0,02	1,30 \pm 0,32	Ns
Total varietales	137,86 \pm 3,29	376,99 \pm 56,68	**
(b) Moscatel de Grano Menudo			
Compuestos ($\mu\text{g/L}$)	MEN	MEND	Sig. ^a
β -Mirceno	4,13 \pm 0,90	4,36 \pm 0,26	Ns
α -Terpineno	0,38 \pm 0,05	0,42 \pm 0,04	Ns
Limoneno	2,56 \pm 0,48	2,69 \pm 0,35	Ns
γ -Terpineno	1,62 \pm 0,41	1,99 \pm 0,23	Ns
Linalol	283,66 \pm 9,03	276,09 \pm 19,16	Ns
α -Terpineol	45,23 \pm 6,80	44,76 \pm 1,73	Ns
β -Citronelol	5,68 \pm 0,73	5,77 \pm 0,06	Ns
Geraniol	27,35 \pm 3,34	23,34 \pm 1,53	Ns
β -Damascenona	1,17 \pm 0,11	1,09 \pm 0,07	Ns
Total varietales	371,79 \pm 20,92	360,50 \pm 21,22	Ns
(c) Albillo Real			
Compuestos ($\mu\text{g/L}$)	MIN	MIND	Sig. ^a
β -Mirceno	Nd	Nd	
α -Terpineno	Nd	Nd	
Limoneno	Nd	Nd	
γ -Terpineno	Nd	Nd	
Linalol	15,19 \pm 0,03	15,55 \pm 0,31	Ns
α -Terpineol	Nd	Nd	
β -Citronelol	2,01 \pm 0,05	2,05 \pm 0,02	Ns
Geraniol	Nd	Nd	
β -Damascenona	1,16 \pm 0,06	1,28 \pm 0,04	Ns
Total varietales	18,36 \pm 0,08	18,88 \pm 0,25	*

^a Significancia en que los tratamientos difieren ($p < 0,05$); Tr: traza; Nd: no detectado; *, **, *** Significación al $p < 0,05$, $p < 0,01$, $p < 0,001$ respectivamente; Ns: no significativo.

También se realizó un análisis de algunos compuestos volátiles mayoritarios formados durante la fermentación en las vendimias 2015 y 2016 para las tres variedades con el fin de determinar la influencia del deshojado en la síntesis de compuestos volátiles liberados durante la fermentación. Se llevó a cabo un análisis de la varianza comparando los vinos procedentes de las uvas de cepas control y deshojadas para cada año y variedad. Los resultados se muestran en las Tablas 34, 35 y 36. Cada tabla muestra las concentraciones de volátiles liberados separados por vendimias y variedades.

En la variedad Moscatel de Alejandría (Tabla 34), los resultados obtenidos para cada año son muy similares. En 2015, se encontraron diferencias significativas en el 51% (15 de 29 volátiles) de los aromas identificados y cuantificados; en la vendimia de 2016 el 58% (17 de 29 volátiles) presentaron diferencias significativas con $p < 0,05$. En 2015, 8 de los 15 compuestos que mostraron diferencias significativas tras el deshojado fueron superiores en la muestra control destacando la familia de los ésteres y aldehídos y cetonas donde todos a excepción del isobutirato de etilo, lactato de etilo y benzaldehído disminuyeron tras el tratamiento de deshojado. Los alcoholes (4 de 8), a excepción del 1-butanol, aumentaron en los vinos de uvas de cepas tratadas en comparación con los controles. La vendimia 2016 mostró un comportamiento similar para las familias de ésteres y alcoholes. Diez compuestos presentaron diferencias significativas ($p < 0,05$) y de nuevo, la mayoría de los ésteres (excepto isobutirato de etilo y acetato de 2-feniletilo), presentaron mayor concentración en los vinos de uvas de cepas control. Los alcoholes aumentaron con deshojado (con la excepción del cis-3-hexen-1-ol) y esta vez, la familia de aldehídos y cetonas fue superior en los vinos tratados. El contenido total de volátiles fue mayor en las muestras deshojadas con respecto a las controles en los dos años, siendo significativamente superior en 2016.

Para la variedad Moscatel de Grano Menudo (Tabla 35), el tratamiento de deshojado causó poco efecto en los compuestos aromáticos generados durante la fermentación. En el año 2015, todos los compuestos aromáticos con $p < 0,05$ (15 de 29 volátiles) obtuvieron concentraciones superiores en la muestra control con respecto a la deshojada. En el año 2016 de los 10 volátiles que mostraron diferencias significativas con el tratamiento de deshojado, todos a excepción de succinato de dietilo y benzaldehído, volvieron a ser superiores en los vinos de uvas de cepas sin deshojar. Los vinos controles obtuvieron mayor concentración total de compuestos aromáticos en los dos años de estudio siendo significativamente superior en el año 2016, al contrario de lo sucedido en Moscatel de Alejandría.

Por último, el deshojado causó un efecto similar en el comportamiento de los compuestos volátiles en los vinos Albillo en las dos vendimias (Tabla 36), siendo más significativo en el año 2016 donde el 72% de los compuestos cuantificados resultaron estadísticamente distintos entre las dos muestras (control y deshojado). En el año 2015 sólo 9 de 29 volátiles obtuvieron un $p < 0,05$ donde todos los compuestos disminuyeron con el deshojado excepto el 1-hexanol que aumentó significativamente en los vinos de cepas tratadas en las dos vendimias. Los alcoholes con seis átomos de carbono contribuyen al aroma de los vinos confiriendo notas herbáceas (Vilanova et al. 2015). De acuerdo con Arnold y Bledsoe (1990) un deshojado tardío (en enero) resulta poco efectivo para reducir la intensidad del carácter vegetal de los vinos. En general, la suma total de los volátiles cuantificados fue significativamente superior en los vinos controles en los dos años de estudio. Al igual que ocurrió para las variedades Moscatel de Alejandría y Grano Menudo, la disminución en la concentración de ésteres en las muestras deshojadas resultó significativa. Durante la fermentación se van a formar ésteres que van a contribuir de forma activa en el aroma del vino atribuyéndole aromas frutados. Su síntesis va a depender de las levaduras que actúen en la fermentación que a su vez dependerán de la disponibilidad de nutrientes, pH, temperatura y el grado de aireación del medio (Kozina et al. 2008). Las diferencias encontradas en esta familia aromática en las tres variedades en

VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

los dos años de estudio sugieren que el deshojado en enero ha supuesto una reducción importante del contenido de este grupo de compuestos. En otro trabajo (Bubola et al. 2009) el deshojado realizado en enero en cepas del cv. Istrian Malvasia dio como resultado vinos con menor concentración de ésteres.

Tabla 34. Concentraciones de compuestos aromáticos mayoritarios (mg/L) en vinos de Moscatel de Alejandría (A) en las vendimias 2015 y 2016 con tratamiento de deshojado (D) y sin deshojado (media \pm dv) (n=3).

Compuestos (mg/L)	Moscatel de Alejandría					
	2015			2016		
	A	AD	Sig ^a	A	AD	Sig ^a
Alcoholes						
Isobutanol	21,92 \pm 3,73	28,52 \pm 2,38	Ns	30,03 \pm 1,35	31,50 \pm 0,45	Ns
1-Butanol	0,18 \pm 0,03	0,12 \pm 0,01	*	0,10 \pm 0,00	0,15 \pm 0,00	***
Alcohol isoamílico	232,61 \pm 44,28	275,83 \pm 18,38	Ns	167,59 \pm 4,14	205,26 \pm 11,19	**
1-Hexanol	0,58 \pm 0,11	0,50 \pm 0,08	Ns	0,36 \pm 0,05	0,39 \pm 0,04	Ns
Cis-3-hexen-1-ol	0,34 \pm 0,04	0,53 \pm 0,11	*	0,19 \pm 0,02	0,04 \pm 0,02	**
Metionol	0,73 \pm 0,14	1,41 \pm 0,25	*	0,42 \pm 0,11	0,56 \pm 0,02	Ns
Alcohol bencílico	0,23 \pm 0,02	0,17 \pm 0,04	Ns	0,15 \pm 0,03	0,13 \pm 0,02	Ns
β -Feniletanol	45,23 \pm 6,00	62,89 \pm 2,48	**	20,53 \pm 1,54	30,87 \pm 0,60	***
<i>Total alcoholes</i>	301,82 \pm 53,44	369,96 \pm 21,93	Ns	219,37 \pm 6,69	268,90 \pm 11,09	**
Lactonas						
γ -Butirolactona	1,75 \pm 0,21	1,82 \pm 0,38	Ns	0,38 \pm 0,07	0,51 \pm 0,05	Ns
Ácidos						
Ácido isobutírico	1,76 \pm 0,23	1,85 \pm 0,28	*	2,25 \pm 0,25	2,09 \pm 0,09	*
Ácido butírico	0,23 \pm 0,02	0,19 \pm 0,02	Ns	0,17 \pm 0,03	0,14 \pm 0,00	Ns
Ácido isovalerianico	2,41 \pm 0,46	2,69 \pm 0,61	Ns	2,31 \pm 0,21	2,18 \pm 0,02	Ns
Ácido hexanoico	3,28 \pm 0,31	2,64 \pm 0,45	Ns	1,89 \pm 0,16	1,42 \pm 0,02	Ns
Ácido octanoico	4,96 \pm 0,51	5,02 \pm 1,16	Ns	2,07 \pm 0,19	2,19 \pm 0,06	Ns
Ácido decanoico	0,81 \pm 0,11	0,48 \pm 0,13	Ns	0,09 \pm 0,01	0,11 \pm 0,01	Ns
<i>Total ácidos</i>	13,46 \pm 1,32	12,88 \pm 0,96	Ns	8,78 \pm 0,13	8,12 \pm 0,02	*
Ésteres						
Isobutirato de etilo	0,46 \pm 0,06	0,74 \pm 0,09	*	0,07 \pm 0,02	0,14 \pm 0,02	**
Butirato de etilo	0,29 \pm 0,04	0,25 \pm 0,04	Ns	0,22 \pm 0,00	0,13 \pm 0,01	***
Isovalerato de etilo	0,36 \pm 0,04	0,27 \pm 0,02	*	0,28 \pm 0,03	0,22 \pm 0,01	*
Acetato de isoamilo	3,07 \pm 0,39	1,94 \pm 0,33	*	0,95 \pm 0,08	0,55 \pm 0,01	**
Hexanoato de etilo	0,29 \pm 0,05	0,14 \pm 0,02	*	0,12 \pm 0,02	0,06 \pm 0,00	**
Acetato de hexilo	0,09 \pm 0,01	0,04 \pm 0,00	**	0,05 \pm 0,00	0,04 \pm 0,00	**
Lactato de etilo	0,68 \pm 0,07	1,98 \pm 0,24	**	1,78 \pm 0,34	0,63 \pm 0,10	**
Octanoato de etilo	0,64 \pm 0,06	0,32 \pm 0,08	**	0,27 \pm 0,04	0,10 \pm 0,01	**
3-Hidroxi-butirato de etilo	0,15 \pm 0,00	0,19 \pm 0,04	Ns	0,11 \pm 0,03	0,10 \pm 0,01	Ns
Succinato de dietilo	0,17 \pm 0,03	0,13 \pm 0,05	Ns	0,21 \pm 0,05	0,01 \pm 0,01	**
Acetato de 2-feniletilo	0,48 \pm 0,09	0,34 \pm 0,09	Ns	0,08 \pm 0,01	0,11 \pm 0,00	**
<i>Total ésteres</i>	6,68 \pm 0,63	6,33 \pm 0,76	Ns	4,14 \pm 0,18	2,07 \pm 0,16	***
Aldehídos y cetonas						
Diacetilo	0,49 \pm 0,06	0,01 \pm 0,00	***	0,23 \pm 0,03	0,25 \pm 0,04	Ns
Acetoina	0,40 \pm 0,06	0,00 \pm 0,00	***	0,20 \pm 0,03	0,90 \pm 0,32	*
Benzaldehído	0,08 \pm 0,00	0,29 \pm 0,06	**	0,05 \pm 0,02	0,14 \pm 0,00	**
<i>Total aldehídos y cetonas</i>	0,97 \pm 0,04	0,29 \pm 0,06	***	0,48 \pm 0,07	1,30 \pm 0,33	*
Total general	324,68 \pm 53,76	391,29 \pm 19,92	Ns	233,15 \pm 6,39	280,90 \pm 11,25	**

^aSignificancia en que los tratamientos difieren: *, **, *** significación al $p < 0,05$, $p < 0,01$, $p < 0,001$ respectivamente;

Ns: no significativo

Tabla 35. Concentraciones de compuestos aromáticos mayoritarios (mg/L) en vinos de Moscatel de Grano Menudo (MEN) en las vendimias 2015 y 2016 con tratamiento de deshojado (D) y sin deshojado (media \pm dv) (n=3).

Compuestos (mg/L)	Moscatel de Grano Menudo					
	2015			2016		
	MEN	MEND	Sig ^a	MEN	MEND	Sig ^a
Alcoholes						
Isobutanol	24,41 \pm 1,37	20,41 \pm 2,45	Ns	37,87 \pm 3,79	32,25 \pm 0,58	Ns
1-Butanol	0,19 \pm 0,02	0,12 \pm 0,02	*	0,37 \pm 0,04	0,20 \pm 0,00	**
Alcohol isoamílico	254,72 \pm 20,41	225,25 \pm 16,76	Ns	260,94 \pm 31,54	215,78 \pm 4,93	Ns
1-Hexanol	0,72 \pm 0,10	0,76 \pm 0,04	Ns	0,59 \pm 0,05	0,51 \pm 0,01	*
Cis-3-hexen-1-ol	Nd	Nd		Nd	Nd	
Metionol	0,78 \pm 0,15	0,92 \pm 0,06	Ns	1,34 \pm 0,19	0,82 \pm 0,02	**
Alcohol bencílico	0,19 \pm 0,01	0,14 \pm 0,01	**	0,11 \pm 0,03	0,11 \pm 0,02	Ns
β -Feniletanol	47,54 \pm 7,37	45,20 \pm 2,35	Ns	37,09 \pm 2,79	30,58 \pm 0,83	*
Total alcoholes	328,58 \pm 28,78	292,83 \pm 17,01	Ns	338,32 \pm 35,40	280,27 \pm 6,17	*
Lactonas						
γ -Butirolactona	2,49 \pm 0,23	1,34 \pm 0,29	**	1,44 \pm 0,40	0,69 \pm 0,06	*
Ácidos						
Ácido isobutírico	2,66 \pm 0,23	2,27 \pm 0,18	*	4,20 \pm 0,14	3,21 \pm 0,56	Ns
Ácido butírico	0,25 \pm 0,02	0,20 \pm 0,01	Ns	0,21 \pm 0,03	0,16 \pm 0,00	Ns
Ácido isovalerianico	3,57 \pm 0,30	3,70 \pm 0,54	Ns	5,29 \pm 0,18	4,21 \pm 0,72	Ns
Ácido hexanoico	3,76 \pm 0,57	2,61 \pm 0,50	Ns	2,01 \pm 0,21	1,44 \pm 0,03	Ns
Ácido octanoico	5,66 \pm 0,94	3,68 \pm 0,75	*	2,85 \pm 0,53	2,12 \pm 0,10	Ns
Ácido decanoico	0,87 \pm 0,09	0,37 \pm 0,11	Ns	0,24 \pm 0,08	0,23 \pm 0,02	Ns
Total ácidos	16,76 \pm 2,13	12,82 \pm 0,72	*	14,80 \pm 0,99	11,37 \pm 1,15	*
Ésteres						
Isobutirato de etilo	1,35 \pm 0,23	1,39 \pm 0,38	Ns	0,34 \pm 0,03	0,35 \pm 0,07	Ns
Butirato de etilo	0,31 \pm 0,03	0,20 \pm 0,02	**	0,20 \pm 0,04	0,14 \pm 0,02	Ns
Isovalerato de etilo	0,32 \pm 0,04	0,26 \pm 0,03	Ns	0,13 \pm 0,02	0,09 \pm 0,00	*
Acetato de isoamilo	2,36 \pm 0,20	1,08 \pm 0,16	**	0,73 \pm 0,15	0,64 \pm 0,03	Ns
Hexanoato de etilo	0,43 \pm 0,03	0,23 \pm 0,05	**	0,13 \pm 0,02	0,10 \pm 0,01	Ns
Acetato de hexilo	0,08 \pm 0,01	0,04 \pm 0,00	***	0,04 \pm 0,00	0,04 \pm 0,00	Ns
Lactato de etilo	1,21 \pm 0,18	1,25 \pm 0,05	Ns	1,23 \pm 0,14	0,45 \pm 0,08	**
Octanoato de etilo	0,84 \pm 0,05	0,47 \pm 0,06	**	0,29 \pm 0,03	0,24 \pm 0,04	Ns
3-Hidroxi-butirato de etilo	0,17 \pm 0,03	0,10 \pm 0,02	*	0,13 \pm 0,02	0,08 \pm 0,01	*
Succinato de dietilo	0,50 \pm 0,02	0,42 \pm 0,03	*	0,15 \pm 0,03	0,36 \pm 0,02	**
Acetato de 2-feniletilo	0,32 \pm 0,03	0,16 \pm 0,03	**	0,10 \pm 0,02	0,07 \pm 0,00	Ns
Total ésteres	7,89 \pm 0,77	5,59 \pm 0,32	**	3,45 \pm 0,32	2,55 \pm 0,07	*
Aldehídos y cetonas						
Diacetilo	0,38 \pm 0,01	0,26 \pm 0,04	**	0,19 \pm 0,02	0,19 \pm 0,03	Ns
Acetoína	0,06 \pm 0,02	Tr	**	0,53 \pm 0,12	0,60 \pm 0,11	Ns
Benzaldehído	0,58 \pm 0,07	0,56 \pm 0,01	Ns	0,11 \pm 0,01	0,13 \pm 0,01	*
Total aldehídos y cetonas	1,02 \pm 0,10	0,82 \pm 0,04	*	0,82 \pm 0,12	0,92 \pm 0,10	Ns
Total general	356,73 \pm 31,81	313,39 \pm 16,51	Ns	358,84 \pm 34,85	295,78 \pm 5,01	*

^aSignificancia en que los tratamientos difieren: *, **, *** significación al $p < 0,05$, $p < 0,01$, $p < 0,001$ respectivamente;

Ns: no significativo; Nd: no detectado; Tr: trazas

Tabla 36. Concentraciones de compuestos aromáticos mayoritarios (mg/L) en vinos de Albillo (MIN) en las vendimias 2015 y 2016 con tratamiento de deshojado (D) y sin deshojado (media \pm dv) (n=3).

Compuestos (mg/L)	Albillo Real					
	2015			2016		
	MIN	MIND	Sig ^a	MIN	MIND	Sig ^a
Alcoholes						
Isobutanol	18,27 \pm 0,47	15,59 \pm 0,26	**	28,55 \pm 0,54	22,93 \pm 1,05	**
1-Butanol	0,48 \pm 0,05	0,39 \pm 0,03	*	0,75 \pm 0,06	0,41 \pm 0,01	**
Alcohol isoamílico	196,11 \pm 9,56	184,34 \pm 9,22	Ns	189,74 \pm 9,76	171,12 \pm 7,95	Ns
1-Hexanol	0,72 \pm 0,04	0,91 \pm 0,05	**	0,46 \pm 0,02	0,58 \pm 0,05	*
Cis-3-hexen-1-ol	Nd	Nd		Nd	Nd	
Metionol	0,94 \pm 0,06	0,66 \pm 0,09	*	1,12 \pm 0,10	0,69 \pm 0,09	**
Alcohol bencílico	0,28 \pm 0,02	0,21 \pm 0,03	*	0,22 \pm 0,02	0,28 \pm 0,05	Ns
β -Feniletanol	15,11 \pm 1,61	12,44 \pm 0,68	Ns	18,26 \pm 0,17	14,39 \pm 1,68	*
<i>Total alcoholes</i>	231,93 \pm 10,19	214,56 \pm 8,65	Ns	239,10 \pm 10,33	210,42 \pm 10,15	*
Lactonas						
γ -Butirolactona	2,53 \pm 0,09	2,28 \pm 0,32	Ns	1,80 \pm 0,09	0,98 \pm 0,06	***
Ácidos						
Ácido isobutírico	2,16 \pm 0,16	2,29 \pm 0,26	Ns	2,47 \pm 0,10	1,96 \pm 0,83	*
Ácido butírico	0,32 \pm 0,01	0,30 \pm 0,03	Ns	0,24 \pm 0,00	0,19 \pm 0,04	Ns
Ácido isovalerianico	1,70 \pm 0,04	1,75 \pm 0,17	Ns	1,07 \pm 0,09	1,01 \pm 0,27	Ns
Ácido hexanoico	6,38 \pm 0,85	5,66 \pm 0,51	Ns	4,03 \pm 0,06	2,48 \pm 0,28	Ns
Ácido octanoico	10,43 \pm 1,36	9,08 \pm 0,68	Ns	6,08 \pm 0,00	3,78 \pm 0,38	***
Ácido decanoico	0,96 \pm 0,08	0,84 \pm 0,07	Ns	0,47 \pm 0,03	0,34 \pm 0,04	Ns
<i>Total ácidos</i>	21,96 \pm 2,23	19,93 \pm 1,66	Ns	14,36 \pm 0,11	9,76 \pm 1,59	**
Ésteres						
Isobutirato de etilo	0,43 \pm 0,04	0,40 \pm 0,07	Ns	1,93 \pm 0,01	1,77 \pm 0,57	Ns
Butirato de etilo	0,58 \pm 0,04	0,50 \pm 0,04	Ns	0,35 \pm 0,05	0,24 \pm 0,04	*
Isovalerato de etilo	0,63 \pm 0,05	0,45 \pm 0,09	*	0,92 \pm 0,04	0,74 \pm 0,06	*
Acetato de isoamilo	12,83 \pm 0,98	9,77 \pm 0,72	*	6,71 \pm 0,50	4,67 \pm 0,99	*
Hexanoato de etilo	0,80 \pm 0,09	0,69 \pm 0,03	Ns	0,46 \pm 0,06	0,33 \pm 0,05	*
Acetato de hexilo	0,33 \pm 0,01	0,31 \pm 0,02	Ns	0,10 \pm 0,00	0,12 \pm 0,02	Ns
Lactato de etilo	3,61 \pm 0,22	2,71 \pm 0,22	**	0,78 \pm 0,10	0,54 \pm 0,09	*
Octanoato de etilo	1,33 \pm 0,12	1,14 \pm 0,01	Ns	1,00 \pm 0,18	0,52 \pm 0,09	*
3-Hidroxi-butirato de etilo	0,37 \pm 0,04	0,29 \pm 0,03	Ns	0,33 \pm 0,04	0,21 \pm 0,03	*
Succinato de dietilo	0,56 \pm 0,09	0,48 \pm 0,10	Ns	0,28 \pm 0,02	0,19 \pm 0,04	*
Acetato de 2-feniletilo	0,44 \pm 0,04	0,32 \pm 0,02	*	0,39 \pm 0,01	0,21 \pm 0,05	**
<i>Total ésteres</i>	21,89 \pm 1,14	17,07 \pm 1,09	*	13,24 \pm 0,86	9,55 \pm 1,89	*
Aldehídos y cetonas						
Diacetilo	1,00 \pm 0,11	0,85 \pm 0,06	Ns	0,27 \pm 0,03	0,34 \pm 0,01	*
Acetoína				Tr	5,48 \pm 1,04	**
Benzaldehído	0,03 \pm 0,01	0,04 \pm 0,01	Ns	0,04 \pm 0,00	0,12 \pm 0,03	**
<i>Total aldehídos y cetonas</i>	1,03 \pm 0,12	0,89 \pm 0,05	Ns	0,31 \pm 0,03	5,94 \pm 1,05	**
Total general	279,33 \pm 12,12	254,72 \pm 7,45	*	268,81 \pm 11,14	236,66 \pm 12,97	*

^aSignificancia en que los tratamientos difieren: *, **, *** significación al $p < 0,05$, $p < 0,01$, $p < 0,001$ respectivamente, NS: no significativo; Nd: no detectado; Tr: trazas

Se realizó un análisis ANOVA de tres factores (factores: año, variedad y tratamiento) Con el objetivo de entender mejor la influencia de distintos factores en la composición aromática de los vinos (Tabla 37). La mayoría de compuestos mostraron diferencias significativas ($p < 0,05$) para el factor año donde solo cuatro compuestos no fueron significativamente distintos: metionol, ácido isovalerianico, isobutirato e isovalerato de etilo. Los resultados del ANOVA para el factor variedad indicaron que todos los compuestos resultaron significativamente distintos. Finalmente, el análisis para el factor tratamiento mostró que el 72% de los compuestos resultaron estadísticamente diferentes.

Además, se estudió la interacción entre los distintos factores (Tabla 37). La interacción entre el año y la variedad fue significativa en todos los compuestos a excepción del 3-hidroxi-butarato de etilo. En 16 compuestos de 29 hubo interacción entre el año y el tratamiento y en 17 entre el tratamiento y la variedad. Esto demuestra que los tres factores son interdependientes y que la composición del perfil aromático de los vinos resultantes está afectada por todos los factores simultáneamente. Como muestra la Tabla 37, el número de compuestos afectados por la interacción año*variedad es muy superior a los afectados por el año*tratamiento y variedad*tratamiento. Así, la variedad influye significativamente sobre la presencia de todos los compuestos analizados e interactúa significativamente con el tratamiento de deshojado para determinar el perfil aromático de los vinos resultantes.

Tabla 37. Resultados del ANOVA de tres factores calculado para compuestos aromáticos mayoritarios siendo los factores año (2015, 2016), variedad (A, MEN, MIN) y tratamiento (deshoje, no deshoje) con sus interacciones.

Compuestos (mg/L)	FACTORES			INTERACCIÓN		
	Año	Variedad	Tratamiento	A*Var	A*Tr	Var*Tr
Alcoholes						
Isobutanol	<0,0001	<0,0001	0,019	0,001	0,020	<0,0001
1-Butanol	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
Alcohol isoamílico	<0,0001	<0,0001	0,539	0,001	0,475	<0,0001
1-Hexanol	<0,0001	<0,0001	0,065	0,036	0,474	0,001
Cis-3-hexen-1-ol	<0,0001	<0,0001	0,474	<0,0001	<0,0001	0,595
Metionol	0,062	0,005	0,286	<0,0001	<0,0001	<0,0001
Alcohol bencílico	<0,0001	<0,0001	0,027	0,020	<0,0001	0,239
β -Feniletanol	<0,0001	<0,0001	0,057	<0,0001	0,055	<0,0001
<i>Total alcoholes</i>	0,001	<0,0001	0,633	<0,0001	0,266	<0,0001
Lactonas						
γ -Butirolactona	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,039	0,783	<0,0001
Ácidos						
Ácido isobutírico	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,038	<0,0001	0,114
Ácido butírico	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,015	0,640	0,651
Ácido isovalerianico	0,743	<0,0001	0,288	<0,0001	0,030	0,167
Ácido hexanoico	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,247	0,936
Ácido octanoico	<0,0001	<0,0001	0,000	<0,0001	0,805	0,007
Ácido decanoico	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,038	<0,0001	0,114
<i>Total ácidos</i>	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,420	0,016
Ésteres						
Isobutirato de etilo	0,696	<0,0001	0,619	<0,0001	0,401	0,315
Butirato de etilo	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,615	0,519
Isovalerato de etilo	0,396	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,534	0,004
Acetato de isoamilo	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,008	<0,0001
Hexanoato de etilo	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,008	0,903
Acetato de hexilo	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
Lactato de etilo	<0,0001	<0,0001	0,881	<0,0001	<0,0001	<0,0001
Octanoato de etilo	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,036	0,290	0,199
3-Hidroxi-butarato de etilo	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,177	0,240	<0,0001
Succinato de dietilo	<0,0001	<0,0001	0,007	<0,0001	0,278	<0,0001
Acetato de 2-feniletilo	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,008	0,061
<i>Total ésteres</i>	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,686	0,009
Aldehídos y cetonas						
Diacetilo	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
Acetoina	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
Benzaldehído	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,887	<0,0001
<i>Total aldehídos y cetonas</i>	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
Total general	<0,0001	<0,0001	0,311	<0,0001	0,312	<0,0001

Se realizó un análisis de componentes principales (ACP) Para confirmar e interpretar mejor los resultados, empleando las concentraciones (mg/L) de los compuestos volátiles mayoritarios (Tablas 34, 35 y 36) en los 12 vinos analizados. La Figura 81 muestra los dos primeros componentes de análisis (C1 y C2) que explican el 58,9% de la varianza total (47,3% 11,6% respectivamente). El C1 muestra el potencial discriminante entre las variedades y los años de estudio. El ACP muestra claramente que el deshojado ha tenido mayores consecuencias sobre la composición volátil de los vinos Moscatel elaborados en el año 2015. Las muestras controles de Moscatel de Alejandría (A15) y Moscatel de Grano Menudo (MEN15) se sitúan en el plano opuesto a sus homólogos deshojados (A15 D representado en el plano negativo de C1 y MEN15 D en el positivo de C2). Los vinos de las dos variedades Moscatel en el año 2016 se distribuyen en el plano negativo de C1. El deshojado tuvo menor efecto en la vendimia 2016 para las dos variedades.

Por otra parte, los vinos Albillo forman dos grupos claramente diferenciados entre los dos años. Se confirma que el deshojado ha causado mayor diferenciación en los vinos procedentes de la vendimia 2016 (MIN16 D y MIN16 inversamente correlacionados en el plano) mientras que apenas causó efecto sobre los vinos de 2015 (ambos distribuidos en el plano positivo del C1) año afectado por pedrisco y con maduración anómala.

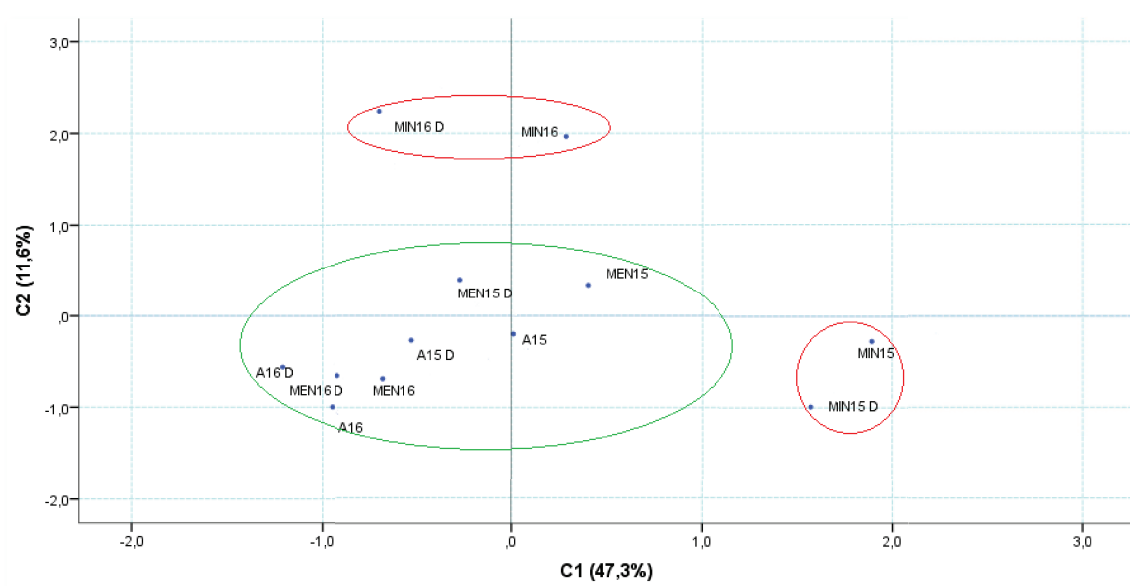


Figura 81. Representación gráfica de los dos componentes principales (C1: 47,3% y C2: 11,6%) para vinos obtenidos de uvas de Moscatel de Alejandría (A), Moscatel de Grano Menudo (MEN) y Albillo (MIN) durante las vendimias 2015 y 2016 bajo tratamiento de deshojado (D).

El efecto del deshojado sobre la composición volátil de los vinos de estudio nos lleva a tener en cuenta algunas consideraciones:

- ✓ La acumulación de precursores aromáticos a lo largo de la maduración durante la vendimia 2015 se mostró en consonancia con el ritmo de adquisición de azúcares por la

baya y parece estar directamente relacionada con la variedad que a su vez se ve influenciada por el microclima generado por el tratamiento.

- ✓ Las uvas de cepas deshojadas en Moscatel de Alejandría presentaron un retraso en la acumulación de precursores con respecto a las controles resultando ligeramente superior a lo largo de la maduración. El tratamiento apenas causó efecto sobre las variedades Moscatel de Grano Menudo y Albillo.
- ✓ Según el estudio de aromas varietales liberados en los vinos de la vendimia 2015, el tratamiento de deshojado causó un incremento muy significativo en la mayoría de los compuestos de la variedad Moscatel de Alejandría destacando linalol, citronelol y α -terpineol. En los vinos de Moscatel de Grano Menudo y Albillo apenas se apreció efecto sobre el contenido de aromas varietales.
- ✓ En términos generales, el contenido total de volátiles formados durante la fermentación fue superior en las muestras deshojadas en los dos años de estudio en Moscatel de Alejandría y disminuyó en Moscatel de Grano Menudo y Albillo.
- ✓ El deshojado en enero supuso una reducción del contenido de ésteres en las tres variedades de estudio durante los dos años.
- ✓ De acuerdo con los resultados de los análisis estadísticos realizados, la variedad influyó significativamente sobre todos los compuestos analizados e interactuó con el tratamiento de deshojado para establecer el perfil aromático de los vinos. El tratamiento tuvo las mayores consecuencias sobre la composición volátil de los vinos de las variedades Moscatel y Albillo durante las vendimias 2015 y 2016 respectivamente.

VII.3.1.4. Influencia sobre las características sensoriales de los vinos

La valoración organoléptica del aroma y el gusto así como las características visuales del vino elaborado a partir de distintas prácticas de cultivo como el deshojado, aporta una información privilegiada sobre el resultado de esta técnica en las propiedades del producto final.

La evaluación sensorial de los vinos se llevó a cabo para las tres variedades durante los dos años de estudio mediante la realización de catas descriptivas (fases visual, olfativa y gustativa) y discriminantes triangulares. La interpretación de los resultados de las catas descriptivas se realizó mediante un análisis de la varianza empleando como variables los atributos sensoriales para el factor tratamiento (deshojado y no deshojado) (test de Tukey con niveles de significación de $p < 0,001$ [muy significativa], $p < 0,01$ [significativa] y $p < 0,05$ [poco significativa]).

VII.3.1.4.1. Análisis descriptivo

1. Moscatel de Alejandría

Las Figuras 82 y 83 representan gráficamente las puntuaciones obtenidas en el análisis descriptivo para los atributos visuales, aromáticos (Figura 82) y gustativos (Figura 83) de los vinos Moscatel de

Alejandría en las vendimias 2015 y 2016. El deshojado modificó el perfil aromático y gustativo de los vinos en ambas cosechas, aunque el sentido del efecto resultó diferente entre los dos años. En la fase visual y olfativa de la vendimia de 2015 (Figura 82A) se encontraron diferencias significativas entre las dos muestras en los parámetros “intensidad de color” ($p < 0,01$), “intensidad de aroma floral” ($p < 0,05$) e “intensidad de aroma vegetal” ($p < 0,01$), obteniendo mayor puntuación la muestra deshojada. En 2016 (Figura 82B) 6 de los 11 atributos evaluados resultaron significativamente distintos: “intensidad de color” ($p < 0,05$), “vivacidad/brillo” ($p < 0,05$), “intensidad de aroma frutal” ($p < 0,01$), “intensidad de aroma vegetal” ($p < 0,01$), “intensidad de aroma de oxidación” ($p < 0,001$) y “calidad global del aroma” ($p < 0,01$), todos ellos recibieron mayor puntuación en la muestra control a excepción del atributo referente a la vivacidad y brillo que fue superior en la muestra deshojada al igual que ocurría en el año 2015.

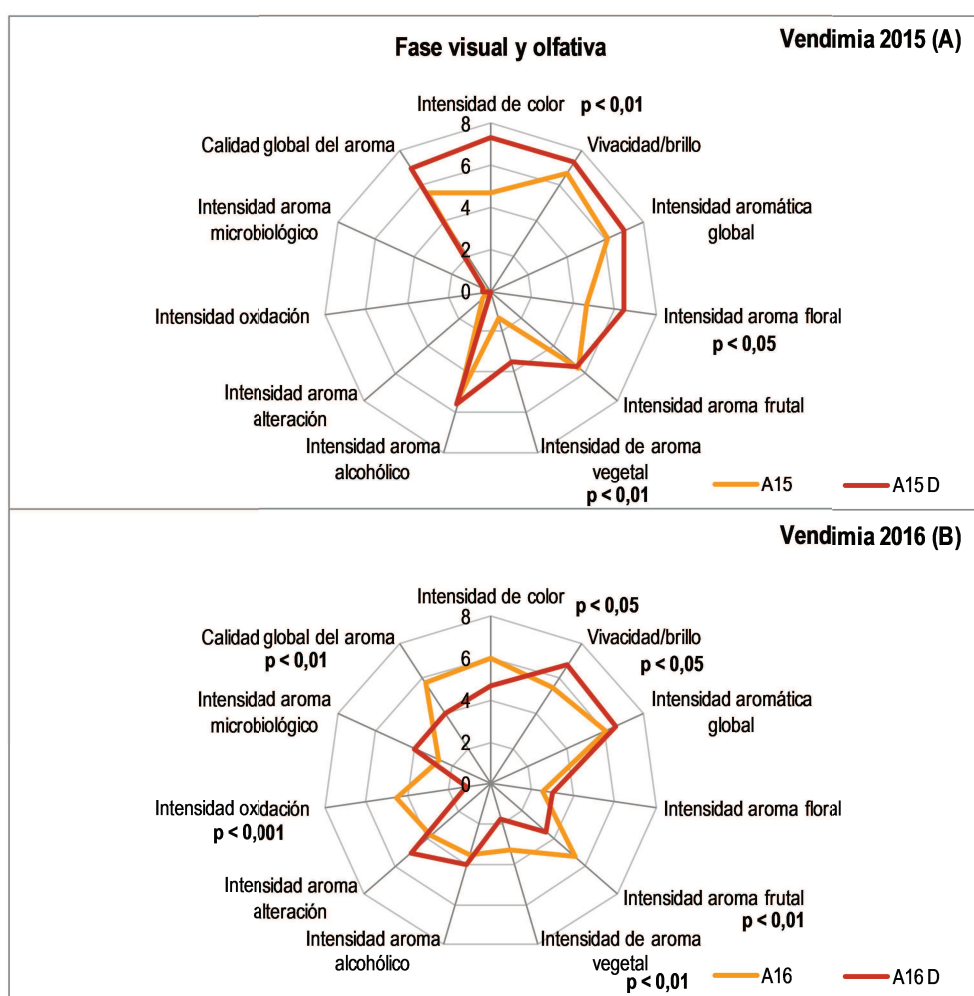


Figura 82. Diagrama sensorial de la fase visual y olfativa de vinos Moscatel de Alejandría con tratamiento de deshojado (AD) y sin deshojado (A) en las vendimias 2015 (A) y 2016 (B).

De forma general, algunos atributos relacionados con parámetros de calidad en vinos blancos (calidad e intensidad aromática global y aromas florales) fueron mejor valorados en los vinos procedentes de deshojado durante el año 2015 coincidiendo con los resultados obtenidos para el análisis fisicoquímico

de compuestos volátiles. Así, el aumento de la concentración de compuestos varietales en los vinos de cepas deshojadas se vio reflejado en el carácter floral de los mismos durante el análisis sensorial. Sin embargo, en 2016, a pesar de que la muestra control fue descrita como notablemente oxidada frente a la deshojada, resultó más afrutada y de mayor calidad aromática, lo cual podría relacionarse con la disminución significativa de aromas afrutados (ésteres) en los vinos deshojados en dicha vendimia. Además, la muestra deshojada resultó significativamente alterada en comparación con la muestra control.

La percepción en boca (Figura 83) refleja que el deshojado provocó un aumento significativo del “carácter alcohólico” ($p < 0,05$) y “acidez” ($p < 0,05$) en los vinos de 2015 (Figura 83A) y del carácter “vegetal/herbáceo” ($p < 0,01$) en 2016 (Figura 83B). Los vinos control de la primera vendimia (2015) fueron descritos por los jueces como faltos de acidez, planos y cortos en boca frente a los deshojados que se caracterizaron por tener más cuerpo, persistencia y calidad global. Contrariamente, los vinos control en 2016 fueron mejor valorados frente a los deshojados en cuanto a los atributos “afrutado” ($p < 0,01$) y calidad global del gusto” ($p < 0,01$). Este hecho junto con el resultado para estos mismos parámetros en la fase olfativa y las características de aromas de alteración en el vino de deshojado, probablemente hizo que a pesar de sufrir una oxidación significativa durante el periodo de conservación, la mayoría de los jueces se decantaran por los vinos control en 2016.

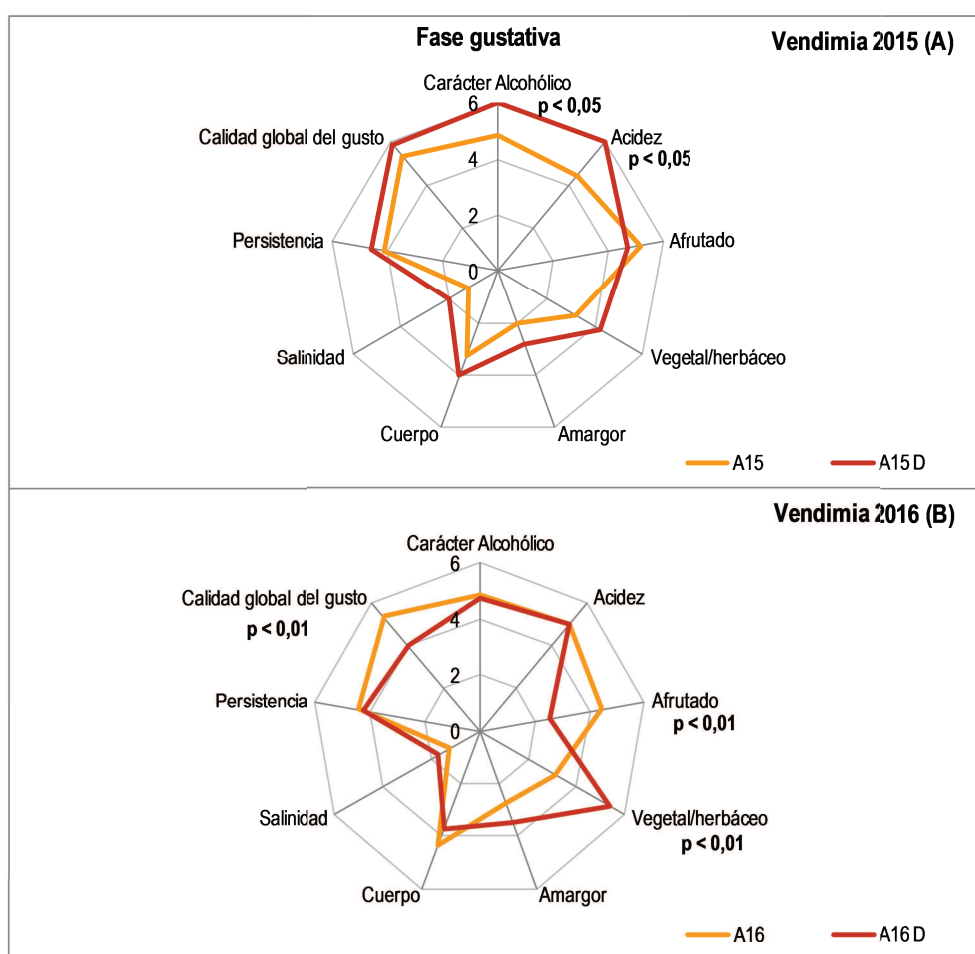


Figura 83. Diagrama sensorial de la fase gustativa de vinos Moscatel de Alejandría con tratamiento de deshojado (AD) y sin deshojado (A) en las vendimias 2015 (A) y 2016 (B).

2. Moscatel de Grano Menudo

Como se aprecia en la Figura 84, la valoración sensorial de la fase aromática y visual realizada por el panel de cata para los vinos de Moscatel de Grano Menudo, reveló diferencias significativas en los parámetros “intensidad de color” y “vivacidad/brillo” entre los vinos de las dos vendimias otorgando la mayor puntuación a la muestra deshojada en los dos años. En 2015 (Figura 84A), los vinos control fueron puntuados con mayor “calidad global del aroma” e “intensidad de aroma frutal” pero sin mostrar diferencias significativas con respecto a los deshojados. El resto de parámetros resultaron muy similares haciendo que las preferencias de los catadores estuvieran muy repartidas como veremos en el análisis triangular. En el caso de la vendimia 2016 (Figura 84B), los vinos deshojados se caracterizaron por poseer aromas de alteración ($p < 0,01$) que fueron descritos con atributos de oxidación ($p < 0,01$) y microbiológicos. A pesar del carácter oxidado que presentaron, dichos vinos fueron mejor valorados por el panel frente a los controles por poseer mayor tipicidad aromática relacionada con los aromas característicos de la variedad. Cabe destacar que los vinos control en las dos vendimias fueron descritos como más afrutados, lo cual estaría en consonancia con el descenso de la familia de los ésteres como consecuencia del deshojado.

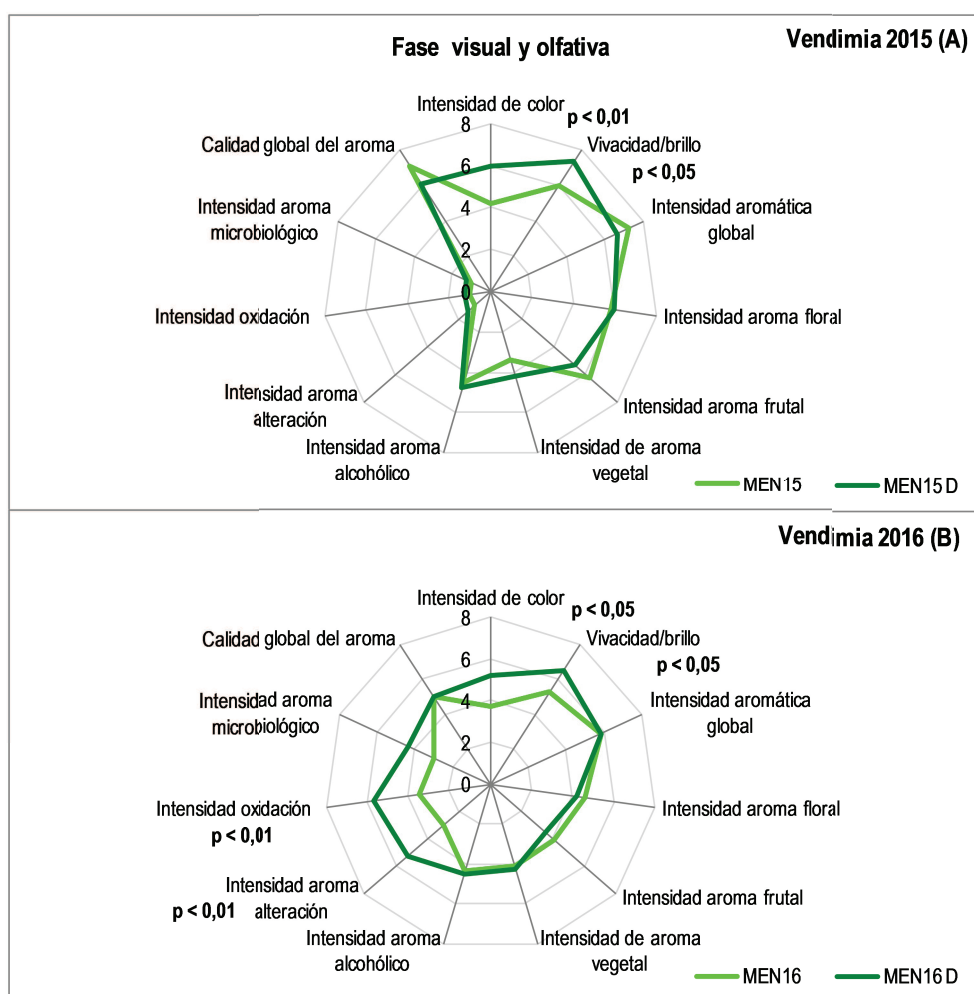


Figura 84. Diagrama sensorial de la fase visual y olfativa de vinos Moscatel Grano Menudo con tratamiento de deshojado (MEND) y sin deshojado (MEN) en las vendimias 2015 (A) y 2016 (B).

En la Figura 85, donde aparecen representadas las puntuaciones de los atributos de la fase gustativa, los resultados más relevantes corresponden a niveles superiores en los parámetros “vegetal/herbáceo” ($p < 0,01$) y “amargor” ($p < 0,01$) en los vinos deshojados de 2015 con respecto a los controles (Figura 85A). Las puntuaciones para el primer atributo mencionado también resultaron significativamente superiores en la muestra deshojada de la vendimia 2016 ($p < 0,05$) (Figura 85B).

En general, como reveló el análisis de compuestos aromáticos, el tratamiento de deshojado tampoco parece haber influido notablemente sobre las características sensoriales de los vinos para esta variedad.

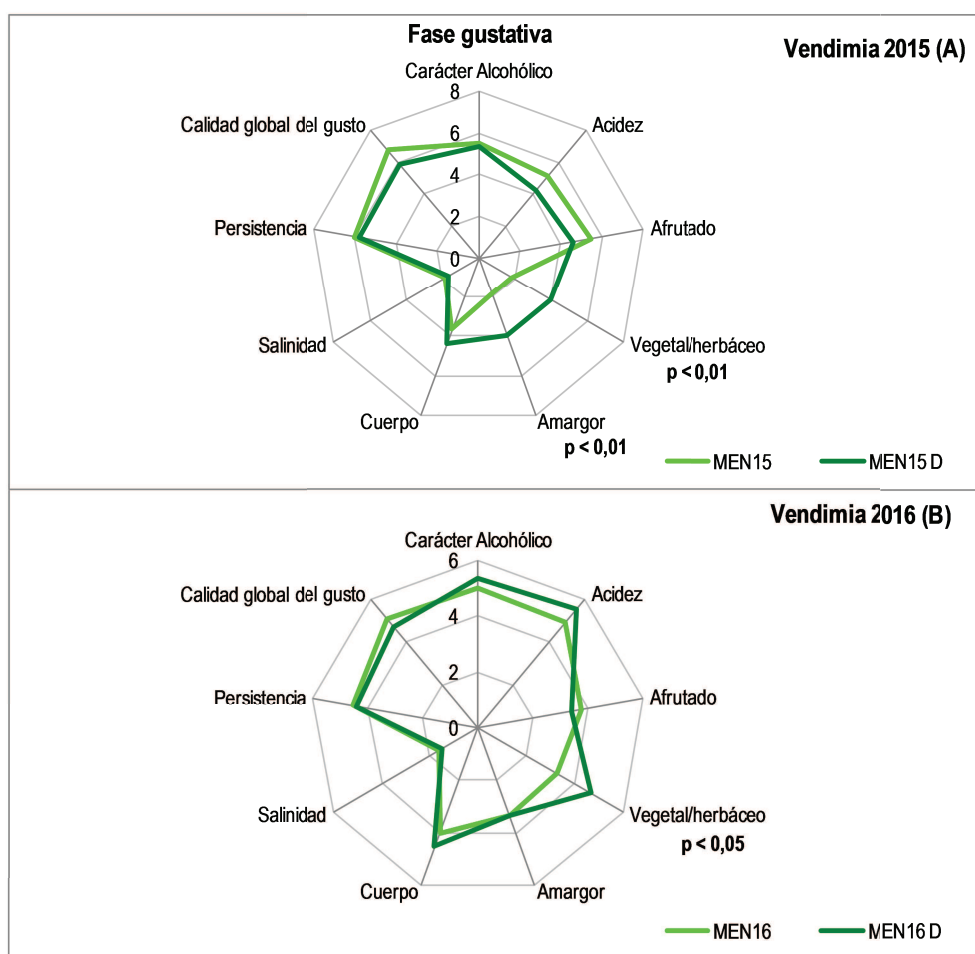


Figura 85. Diagrama sensorial de la fase gustativa de vinos Moscatel de Grano Menudo con tratamiento de deshojado (MEND) y sin deshojado (MEN) en las vendimias 2015 (A) y 2016 (B).

3. Albillo Real

El análisis organoléptico de los vinos de Albillo mostró escasas diferencias entre los vinos de la vendimia 2015 (Figuras 86A y 87A). En la fase olfativa solo hubo diferencias significativas en el atributo “intensidad de aroma vegetal” ($p < 0,05$) que recibió mayor puntuación en la muestra control (MIN15). En el aspecto gustativo la muestra de deshoje exhibió una acidez significativamente superior al control ($p < 0,05$). El atributo “vegetal/herbáceo” también fue superior en el vino de deshojado pero esta vez sin significación estadística. Los vinos de cepas tratadas mostraron cierta tendencia hacia una calidad global del aroma e

intensidad aromática superior a los convencionales quedando reflejado en los comentarios de cata de los jueces que resaltaron la tipicidad varietal y cierto carácter frutal y floral en el vino de deshojado.

Los resultados para el análisis de los vinos de 2016 (Figuras 86B y 87B) tuvieron distinta interpretación y significado para el panel de cata. En la fase visual y olfativa, los vinos sin tratamiento de deshojado fueron los mejor valorados por el panel mostrando puntuaciones significativamente superiores en los atributos “intensidad de aroma floral” ($p < 0,001$), “intensidad de aroma frutal” ($p < 0,001$) y “calidad global del aroma” ($p < 0,05$), considerados todos ellos parámetros de calidad en vinos blancos. El vino de deshojado se caracterizó por poseer mayor intensidad de aroma vegetal ($p < 0,05$). En la fase gustativa el vino control volvió a resultar más intenso destacando significativamente los descriptores “afrutado” y “cuerpo” ($p < 0,01$ los dos atributos), y recibiendo la mayor puntuación en “calidad global del gusto” sin significación estadística. El panel de cata se decantó claramente por el vino de cepas control destacando la presencia de aromas varietales, características frutales y untuosidad en boca.

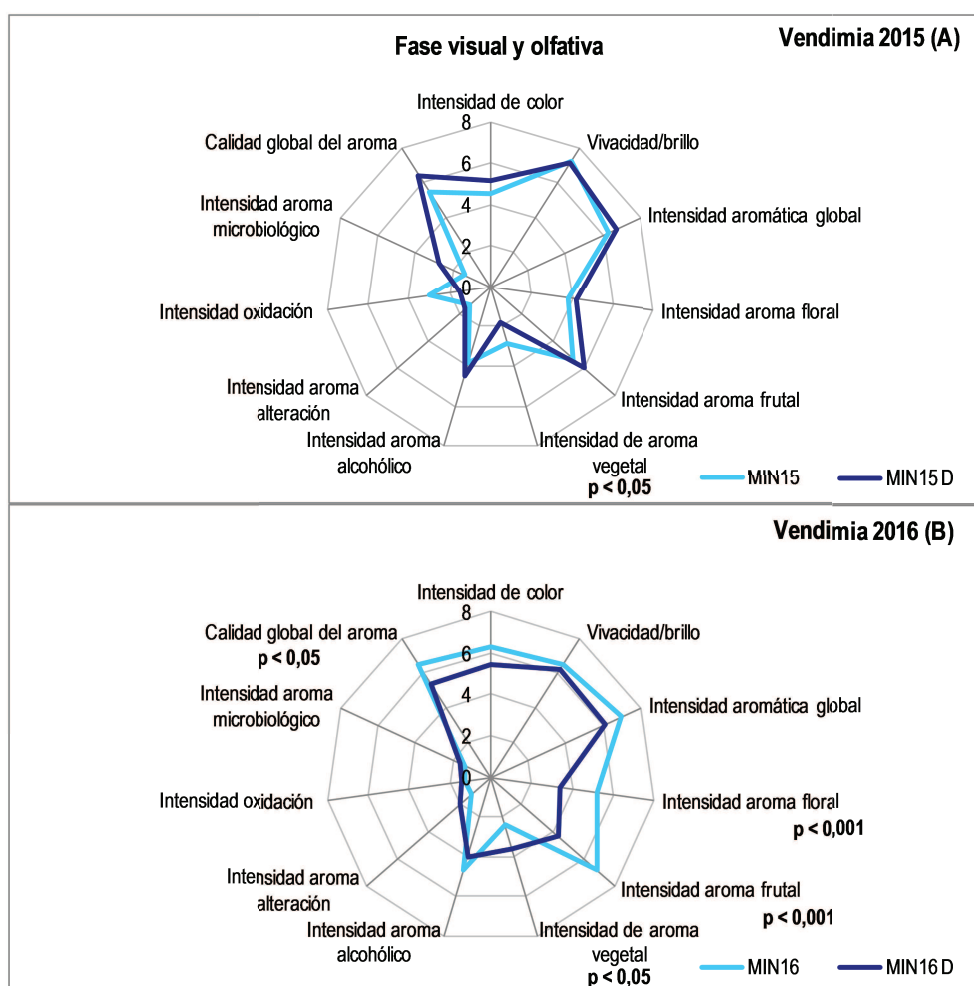


Figura 86. Diagrama sensorial de la fase visual y olfativa de vinos Albarillo con tratamiento de deshojado (MIND) y sin deshojado (MIN) en las vendimias 2015 (A) y 2016 (B).

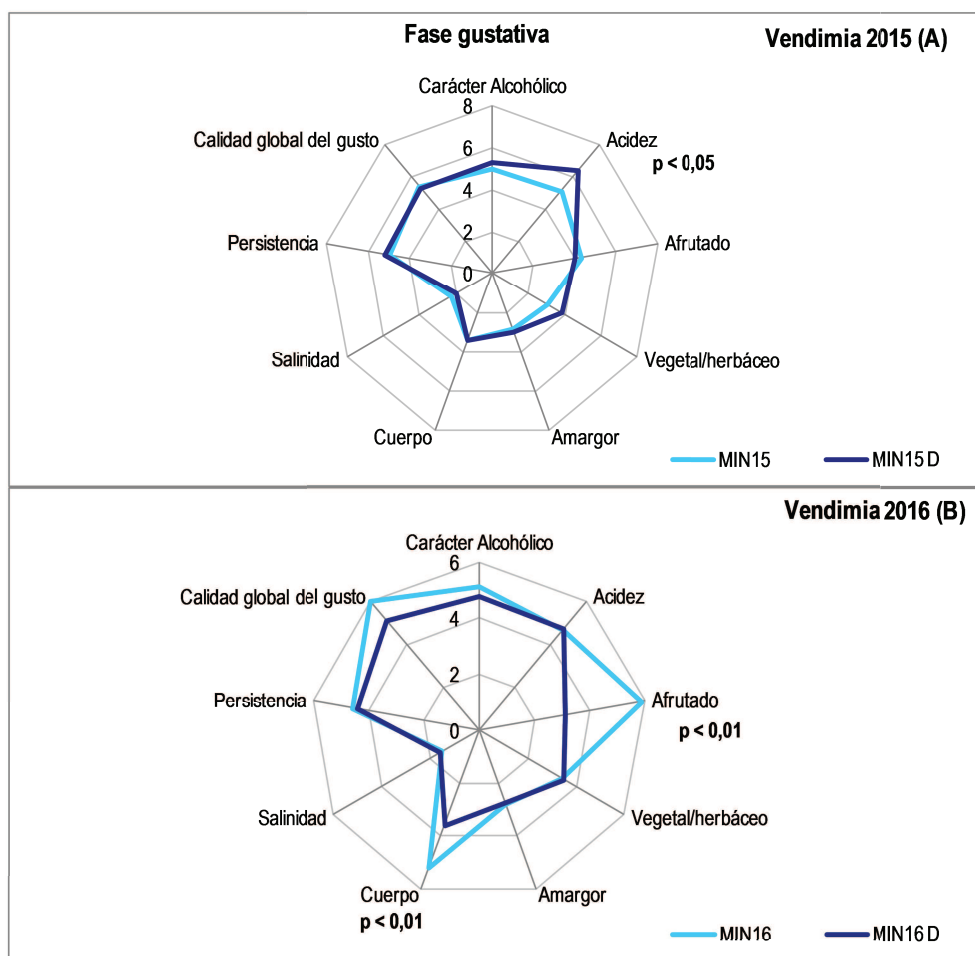


Figura 87. Diagrama sensorial de la fase gustativa de vinos Albillo con tratamiento de deshojado (MIND) y sin deshojado (MIN) en las vendimias 2015 (A) y 2016 (B).

VII.3.1.4.2. Análisis discriminante triangular

Los vinos obtenidos a partir de uvas de cepas control (sin deshojar) fueron comparados con los de uvas de cepas deshojadas mediante catas discriminantes triangulares para determinar si el panel distinguía el efecto del tratamiento. Los resultados de las pruebas se explicaron siguiendo las tablas de interpretación de datos de la norma ISO 4120:2007. El análisis de los vinos de Moscatel de Alejandría manifestó diferencias significativas en una de las dos pruebas realizadas en la vendimia de 2015, con un nivel de significación del 5% mientras que en la otra prueba los jueces no diferenciaron los vinos estadísticamente. En 2016, debido a los aromas claros de alteración que describieron los jueces en sus comentarios, se decidió no hacer prueba triangular para evitar la distinción de los vinos condicionada por el carácter alterado de las muestras. En el análisis realizado para los vinos Moscatel de Grano Menudo no hubo diferencias significativas en ninguna de las dos pruebas presentadas para los vinos de la vendimia 2015. En 2016 el panel distinguió las dos muestras (control y deshojada) en una de las dos pruebas con el 1% de significación estadística. Y por último, en los vinos de la variedad Albillo de la Finca La Mina el panel distinguió estadísticamente los dos vinos en las dos pruebas ejecutadas para la vendimia 2015 (significación al 1%) y 2016 (significación al 5%).

Con el objetivo de establecer una clasificación más rigurosa de las muestras según la preferencia, durante la realización de las catas triangulares también se pidió al panel que eligiese en cada prueba la muestra favorita. Sólo se tomaron en cuenta las preferencias de aquellos jueces que habían acertado en la diferenciación de los vinos en cada análisis. Así, en las pruebas para Moscatel de Grano Menudo en 2015 las preferencias estuvieron muy repartidas, los jueces no se decantaron estadísticamente por ninguno. En 2016 los resultados de la prueba en la que los vinos se diferenciaron estadísticamente, dieron como favorito al vino control, 6 de los 7 acertantes lo eligieron frente al de deshojado que, como vimos en el análisis descriptivo, presentaba aromas de alteración. Con respecto a los vinos de Moscatel de Alejandría, en la cata en la que distinguieron estadísticamente vinos de la vendimia de 2015, las preferencias de los jueces se repartieron al 50%, la mitad prefería el vino de cepas deshojadas y la otra mitad el vino control. Los vinos Albillo de cepas control en 2015 resultaron notablemente favoritos en la segunda prueba realizada, 6 de los 7 jueces que participaron en la cata lo eligieron frente a los de cepas deshojadas. En el segundo análisis, 4 prefirieron el de deshojado y 3 el control. Los vinos de 2016 de cepas control fueron preferidos por el panel, solo uno de los catadores prefirió el de cepas deshojadas en una de las dos pruebas presentadas.

En conjunto, el deshojado parece haber causado un efecto común en alguno de los parámetros organolépticos analizados. Como ya se ha explicado, una de las principales consecuencias del deshojado es el incremento de la exposición solar de los racimos y las hojas que quedan en la cepa. Son muchos los estudios realizados acerca del efecto de la exposición solar y la temperatura sobre las características sensoriales de los vinos (Arnold & Bledsoe 1990; Morrison & Noble 1990; Reynolds et al. 2007) y la síntesis de la mayoría de metabolitos secundarios responsables de los aromas que determinarán el perfil aromático final (Kalua & Boss 2009; Mendes-Pinto 2009). Otros autores se han centrado en el efecto de prácticas vitícolas sobre la síntesis de aromas y su relación con la calidad del vino (Hernandez-Orte et al. 2014; Moreno et al. 2016). De acuerdo con Kalua y Boss (2009), la composición aromática de la uva es cambiante y dependerá de la actividad de las enzimas implicadas en la síntesis. De esta forma, cualquier práctica vitícola que influya en los procesos de maduración de la baya podría influir de forma significativa en el perfil aromático y por tanto, en las características sensoriales de los vinos elaborados. En nuestro estudio, el aumento de la exposición de los racimos mediante el deshojado indujo a la obtención de vinos más florales y de mayor calidad aromática en las variedades Moscatel de Alejandría y Albillo durante la vendimia 2015 (año más cálido y seco), mientras que en 2016 (año más húmedo y templado) se observó la tendencia contraria. En un estudio realizado por Holt et al. (2008) en el que ensayaban distintos sistemas de poda, también encontraron diferencias entre vendimias y lo atribuyeron al efecto año. Como hemos venido observando en el presente trabajo, las distintas condiciones climáticas interanuales pudieron influir sobre el desarrollo de la maduración y por consiguiente, en la composición aromática y las características organolépticas de los vinos para una misma variedad.

Otro factor determinante en las características sensoriales del vino es el cultivo. Así, además de la respuesta desigual de las distintas variedades al tratamiento realizado, también se verá afectada la síntesis de ciertos compuestos aromáticos propios de la genética del cultivo, como los monoterpenos característicos

de la familia Moscatel, y por tanto, las características organolépticas de los vinos resultantes (Park et al. 1991; Coelho et al. 2007; Kalua & Boss 2009).

En cuanto a las características percibidas en boca, el deshojado indujo un incremento del carácter vegetal en casi todos los vinos a excepción del Albillo Real en 2016. Arnold y Bledsoe (1990) determinaron que el deshojado durante el envero no resultaba eficaz a la hora de reducir el carácter vegetal de los vinos.

Por tanto, el deshojado mejoró alguna de las características sensoriales de los vinos, sin embargo, la sensibilidad de esta práctica depende de la variedad y las características del año.

VII.3.2. Influencia del sistema de conducción del viñedo en distintos cvs. Albillo Real

Albillo Real es una variedad de uva blanca de cultivo tradicional en la subzona de San Martín de Valdeiglesias dentro de la D.O. "Vinos de Madrid". Debido al creciente interés por potenciar variedades autóctonas en los últimos años, algunas bodegas están apostando por su recuperación. Aunque tradicionalmente su empleo era como uva de mesa la práctica desaparición de ese mercado la ha derivado casi por entero a la vinificación. Los pocos estudios realizados acerca de su composición surgieron que los vinos elaborados contienen notas interesantes de aroma y sabor (Jurado & Pinilla 2002; Sánchez-Palomo et al. 2007a). A pesar de su importancia en la región, hay poca información sobre la optimización de sus características enológicas mediante la selección del sistema de conducción. El objetivo fundamental de este trabajo fue la evaluación de la influencia de dos métodos distintos de conducción tradicionalmente empleados en la D.O. "Vinos de Madrid" (vaso [V] y espaldera [E]) sobre la composición físico-química y contenido en precursores aromáticos de bayas y mostos así como la composición volátil y el perfil sensorial de los correspondientes vinos a lo largo de las campañas 2014 y 2015 en cinco parcelas de la Subzona de San Martín de Valdeiglesias de la D.O. "Vinos de Madrid".

Tres viñedos se disponían en vaso: Lancha de la Osa (LAN), Camacha (CAM) y Peña Caballera (PC) y dos en espaldera formando un cordón bilateral: Mina (MIN) y Navarredonda (NAVA).

VII.3.2.1. Influencia sobre la evolución de la maduración y composición de la baya

En regiones de clima cálido donde la sobreexposición del racimo puede ser un problema por el exceso de radiación y temperatura acumulada en las uvas, el efecto del sistema de conducción es esencial para asegurar una correcta maduración y evitar problemas de pasificación y degradación de componentes en la baya.

Para evaluar y comparar el desarrollo de la maduración como consecuencia del efecto de la temperatura y radiación recibidas por el racimo en función del modo de conducción de cada viñedo, se realizó un análisis de la varianza de los resultados para cada parámetro de maduración medido, expresando las diferencias significativas encontradas entre las viñas durante las semanas coincidentes a lo largo de la maduración (Tabla 38). Los valores iniciales de °Brix muestran alguna de las características

propias de la variedad, como es su capacidad para una rápida acumulación de azúcar y, especialmente, su carácter muy temprano para alcanzarlo, por ello, como se aprecia en la Tabla 38 no se llegó a tiempo para la recogida de muestra de envero en la finca de la Camacha durante la vendimia 2014; el primer dato registrado presentó un valor de 21,8 °Brix. Las diferencias se fueron intensificando a medida que la maduración avanzaba. Al final, las uvas de los viñedos dispuestos con formación en vaso (PC, CAM y LAN) alcanzaron más rápidamente la madurez tecnológica establecida para determinar la fecha de vendimia en los dos años de estudio. Los valores de IMT (Índice de Madurez Tecnológica) muestran diferencias significativas entre los cultivos en los dos años, principalmente en los últimos estados de maduración donde se aprecian unos niveles de IMT que muestran el carácter de una variedad con escasa acidez en relación con altos niveles de azúcar. Los viñedos en vaso mostraron valores de IMT más favorables en la vendimia 2014 siendo más elevado en Camacha. En 2015, el IMT fue superior en todos los viñedos, resultando especialmente elevado en el momento de la vendimia en los mostos de Lancha de la Osa (78,3) debido a la baja acidez titulable alcanzada (2,9 g/L ác. Tartárico). Las uvas de La Mina presentaron niveles más altos que Navarredonda en los dos años en el momento de la cosecha siendo más elevado en 2014 debido a la mayor concentración de azúcar alcanzada con respecto a 2015 (23,1 °Brix).

Los meses de julio y agosto, en los que se dan los fenómenos de envero y maduración de las uvas Albillo, mostraron diferencias climáticas entre los dos años de estudio que determinaron las fechas de la vendimia (Figura 88). El año 2015 fue más cálido que 2014 durante el periodo mencionado, y como consecuencia de las altas temperaturas, la maduración se aceleró notablemente entre la segunda y tercera semana de muestreo. Debido al rápido descenso de los niveles de acidez titulable y al incremento de pH, se fijó la fecha de vendimia antes de lo deseado obteniéndose mostos con valores de °Brix inferiores a los esperados (en torno a 22 °Brix). Al igual que en 2014, los viñedos dispuestos en espaldera tardaron más tiempo en alcanzar la madurez tecnológica, especialmente Navarredonda en la que se produjo un desfase de más de tres semanas con respecto a las fincas en vaso en las dos cosechas.

En relación con los valores de pH registrados, en las dos campañas se apreciaron diferencias significativas entre los cultivos a lo largo de la maduración incrementando su nivel progresivamente hasta el momento de la vendimia donde los viñedos en espaldera tuvieron niveles más altos en comparación con los dispuestos en vaso. Los elevados valores de potasio contribuyeron a que el pH fuera superior al deseado en los mostos en el momento de la cosecha. Nuestros resultados están en consonancia con otros estudios donde se obtuvieron valores más altos de pH en sistemas con un microclima de racimos sombreados (Smart 1980; Smart 1984; Smart 1985b), sin embargo, otros autores defienden que el pH y K aumentan con la mayor exposición de los racimos a la radiación (Spayd et al. 2002; Morris et al. 1985; Bergqvist et al. 2001).

Durante la campaña 2014, los valores máximos de acidez titulable y las concentraciones de ácido tartárico correspondieron a los cultivos en vaso, sin embargo, en los datos recogidos en 2015 se produjo el rápido descenso ya mencionado en todos los cultivos siendo más pronunciado en los viñedos con las cepas en vaso como consecuencia de las altas temperaturas que, por combustión, hacen que los ácidos se

degraden más rápidamente, especialmente el ácido málico. Bergqvist et al. (2001), obtuvieron valores de entre 4 y 5 g/L de ácido tartárico para el cv. Cabernet Sauvignon en zonas cálidas de California con distintos sistemas de conducción y Smart et al. (1985a) obtuvo para el cv. Syrah valores de 3 a 4 g/L de ácido tartárico con distintos sistemas de conducción y exposición solar.

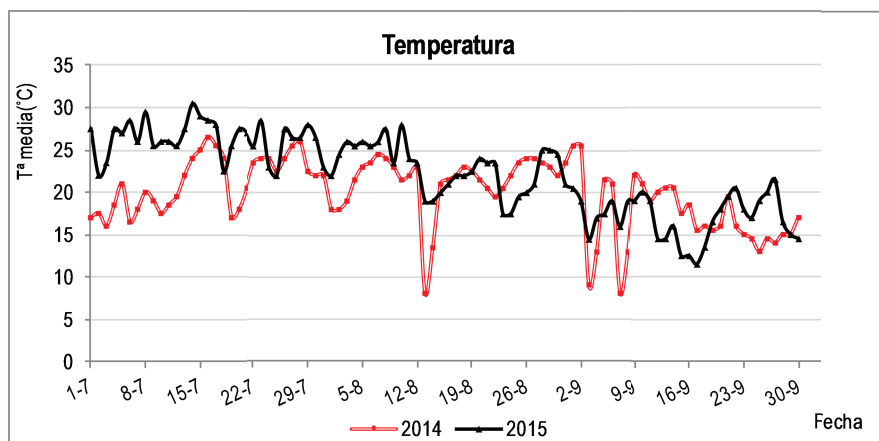


Figura 88. Evolución de la temperatura media en los meses de julio y agosto en 2014 y 2015 (estación meteorológica de Rozas de Puerto Real)

Como se explicó en el capítulo anterior referido al deshojado, el viñedo de la finca La Mina sufrió graves daños a causa de una tormenta de pedrisco entorno a la fecha de envero en el año 2015 ocasionando daños en las hojas, pámpanos y en los frutos recién cuajados derivando en una parada del desarrollo de las bayas y disminuyendo considerablemente su producción con respecto al año anterior. De acuerdo con los resultados del °Brix en la fecha de vendimia de La Mina en 2015, la uva fue recogida con menos azúcares (20,6 °Brix) con respecto al año anterior (23,1 °Brix) debido a que las bayas comenzaban a presentar cierto grado de pasificación junto a unos niveles de pH y acidez titulable poco deseables como consecuencia el exceso de temperatura recibida por los racimos afectando mayormente al ácido málico (0,6 g/L en el momento de la vendimia). Otros autores informaron sobre fenómenos de deshidratación, quemaduras, escasa acumulación de azúcares y degradación de ácidos en las bayas derivados de las altas temperaturas (Chorti et al. 2010; Bonada et al. 2015; Rienh et al. 2016).

El viñedo de Navarredonda, cuyas características se detallan en el apartado VI.2.1.2.5 de material y métodos, se componía de cepas muy vigorosas con poda larga y gran cantidad de follaje que dificultaba el acceso de la luz al interior de la vegetación. De acuerdo con Smart (Smart 1984; Smart 1985b) cuantas más capas de hoja tenga la pantalla de vegetación mayor será el sombreado formado afectando la fotosíntesis de la planta y por tanto a la calidad del racimo. Howell et al. (1991) citan algunos estudios donde se concluye que la calidad de la radiación solar al atravesar las hojas se vería comprometida y tendría consecuencias directas sobre el inicio de la floración (May & Cellier 1973) y por tanto sobre la fertilidad de las yemas (Buttrose 1970), hecho que explicaría el claro retraso del envero y maduración dados en Navarredonda junto con la escasa producción que manifestó el viñedo en las dos campañas de estudio con

respecto al resto de cultivos. Bergqvist et al. (2001) sugieren que los efectos de la luz sobre la composición del fruto dependen principalmente de la calidad y la medida en que la temperatura de la baya se eleva como resultado del aumento de la exposición a la luz solar. Cabe destacar el hecho de que la fecha de vendimia de la finca Navarredonda en la campaña 2014 se vio condicionada por la aparición de *Botrytis cinerea* debido a las lluvias registradas durante la primera semana de septiembre, que aunque fueron escasas, la abundante vegetación de las cepas y las bajas temperaturas durante ese periodo impidieron una correcta aireación y secado de las bayas generando un medio idóneo para el desarrollo de *B.cinerea*. Así, las uvas fueron recolectadas con escasa madurez sacarimétrica (18,7 °Brix) y niveles poco deseables de pH y acidez. Diversos estudios han demostrado la relación entre la densidad de la vegetación y la humedad del racimo con el sistema de conducción del viñedo, la variedad de la uva y la poda (Savage & Sall 1984; Gubler et al. 1987; Bem et al. 2015). En esta línea, Savage y Sall (1984) informaron sobre la correlación entre la incidencia y severidad de la putrefacción con el sistema de conducción en el que crecían las uvas. Determinaron que el desarrollo de las enfermedades estaba fuertemente relacionado con el microclima que se generaba en función del sistema de conducción del viñedo. Asimismo, encontraron diferencias significativas entre microclimas de dos sistemas de conducción en términos de aireación, temperatura de las bayas y la tasa de evaporación. También se registraron lluvias durante la primera semana de septiembre de 2015, pero a diferencia del año anterior, se había realizado una poda en verde durante el mes de mayo que mejoró las condiciones de insolación y aireación de las cepas en la campaña 2015.

Como reflejan algunos estudios (Morris et al. 1985; Bergqvist et al. 2001), el °Brix aumenta con la mejor exposición de los racimos, así, la velocidad de maduración de los viñedos en espaldera (cepas más sombreadas) resultó más lenta que la de los viñedos en vaso. Éstas últimas alcanzaron valores de pH y acidez más favorables en la campaña de 2014 donde las temperaturas moderadas facilitaron una maduración más pausada.

Tabla 38. Composición de las uvas a lo largo de la maduración (pH, acidez titulable expresada en g/L de ác. Tartárico (AT), azúcar (°Brix), índice de madurez tecnológica (IMT), potasio (K), ácido málico (MH₂) y ácido tartárico (TH₂) expresados en g/L) de 5 cultivos de Albillo (NAVA, MIN, LAN, PC y CAM) en espaldera (E) y vaso (V) en 2014 y 2015 (media ± dv) (n=3).

Ste ^a	Fecha	SC ^b	P ^c	2014										2015											
				pH	AT		°Brix		IMT		K		MH ₂	TH ₂	Fecha	pH	AT		°Brix		IMT		K		MH ₂
0	30-jul	E	NAVA																						
			MIN	3,31 ± 0,01 b	4,7 ± 0,0 b	17,3 ± 0,1 c	34,9 ± 0,5 a	1,2	1,1	5,0															
		V	LAN	3,20 ± 0,01 c	6,7 ± 0,1 a	17,8 ± 0,0 b	24,7 ± 0,2 c	1,5	2,3	4,0	21-jul	3,21 ± 0,00 b	5,0 ± 0,0 d	16,8 ± 0,0 b	31,2 ± 0,0 a	1,2	1,2	5,3							
			PC	3,42 ± 0,02 a	6,5 ± 0,0 c	19,3 ± 0,1 a	28,6 ± 0,1 b	1,2	2,3	5,8		3,14 ± 0,00 c	5,5 ± 0,0 c	15,9 ± 0,2 c	26,8 ± 0,2 c	1,3	1,4	-							
			CAM																						

^aSte: semana tras envero; ^bSC: sistema de conducción; ^cP: parcela; -: no hay dato. Valores con distinta letra indican diferencias significativas entre los viñedos de acuerdo con el test de Tukey (p < 0,05). Los datos coloreados corresponden al momento elegido para la vendimia.

VII.3.2.2. Influencia sobre el potencial aromático varietal de las uvas

El sistema de conducción implica condiciones de crecimiento específicas como la exposición a la luz (Marais et al. 1992), distancia media, distribución y orientación del follaje, densidad (Jackson & Lombard 1993) y tamaño de la vid (Howell et al. 1991). Todos estos factores afectarán al rendimiento del metabolismo de la planta y, por consiguiente, al desarrollo del perfil aromático de la uva (Reynolds et al. 1996a).

La Figura 89 representa la evolución del contenido total de precursores aromáticos de las uvas en las cinco parcelas de estudio a lo largo de la maduración durante las campañas 2014 y 2015 con el objetivo de determinar el momento óptimo de madurez aromática de cada uno de los viñedos en función del modo de conducción empleado. La síntesis de precursores aromáticos mostró una evolución paralela a la madurez sacarimétrica. Las uvas de La Mina mostraron un incremento inicial seguido de una zona casi plana similar a lo indicado por (Bayonove 2003) para terminar con un nuevo aumento en las fechas próximas a la vendimia. Sin embargo, en 2015 se apreció un ligero descenso del IPA_v entre las dos últimas fechas de muestreo. Recordemos que la uva de La Mina en el momento de la recolección en la campaña 2015 comenzaba a presentar signos de deshidratación como consecuencia de los daños sufridos a causa de una tormenta de pedrisco, efecto que puede estar relacionado con el descenso en el contenido en precursores aromáticos para esta variedad, sin embargo, Serrano de la Hoz (2014a) encontró en uvas Moscatel mayor IPA_v en bayas deshidratadas sometidas a varios días de asoleo.

Los valores de IPA_v en las parcelas cultivadas en vaso siguieron una tendencia muy similar, alcanzando los máximos niveles en la fecha de vendimia y siendo Peña Caballera (PC) la que mostró los mayores valores en los dos años de estudio. Las gráficas muestran la capacidad de los viñedos en vaso para alcanzar una pronta madurez aromática. En general los valores de IPA_v fueron similares entre las parcelas dispuestas en vaso destacando PC, viñedo que se encontraba a mayor altitud (770 m) y con orientación noreste. El viñedo de La Mina exhibió los mayores niveles de IPA_v entre todos los viñedos durante la campaña de temperaturas más suaves a lo largo de la maduración (2014). En 2015 los valores de la última fecha de muestreo probablemente se vieron condicionados por daños del pedrisco y el estado de pasificación de las bayas. Estas observaciones corroboran los resultados informados por Ji y Dami (2008), en los que encontraron que el sistema de conducción afectaba al contenido de compuestos aromáticos de las uvas de la variedad Traminette, en particular monoterpenos que veían incrementada su concentración en sistemas con una adecuada iluminación.

En el paraje de Navarredonda la madurez aromática fue muy inferior al resto durante la campaña 2014 y apenas se apreciaron cambios en el IPA_v a lo largo de la maduración en 2015. La tendencia al descenso en la penúltima semana de muestreo en 2014 y en la última semana de 2015 podría estar asociada al efecto de dilución causado por las lluvias registradas en esas fechas. Además, en 2014 un porcentaje importante de racimos presentaban *Botrytis* hecho que otros autores han relacionado con un descenso de aromas en las uvas (Blouin & Guimberteau 2004; Sarrazin et al. 2007; Serrano de la Hoz 2014a).

En conclusión, con algunas excepciones por la acción de accidentes meteorológicos y microorganismos durante el envero y maduración que pudieron afectar al correcto desarrollo del metabolismo de los precursores aromáticos (pedrisco en La Mina en 2015 y *Botrytis cinerea* en Navarredonda), la tendencia apreciada en todos los cultivos fue la de ir acumulando precursores a lo largo de la maduración llevando un ritmo más pausado en las uvas de cepas en espaldera. El mayor incremento de IPAv se produjo en la última semana, momento en el que se da la mayor acumulación de precursores aromáticos y las condiciones de exposición solar, la temperatura y el balance hídrico juegan un papel determinante (Ribéreau-Gayon et al. 2003a).

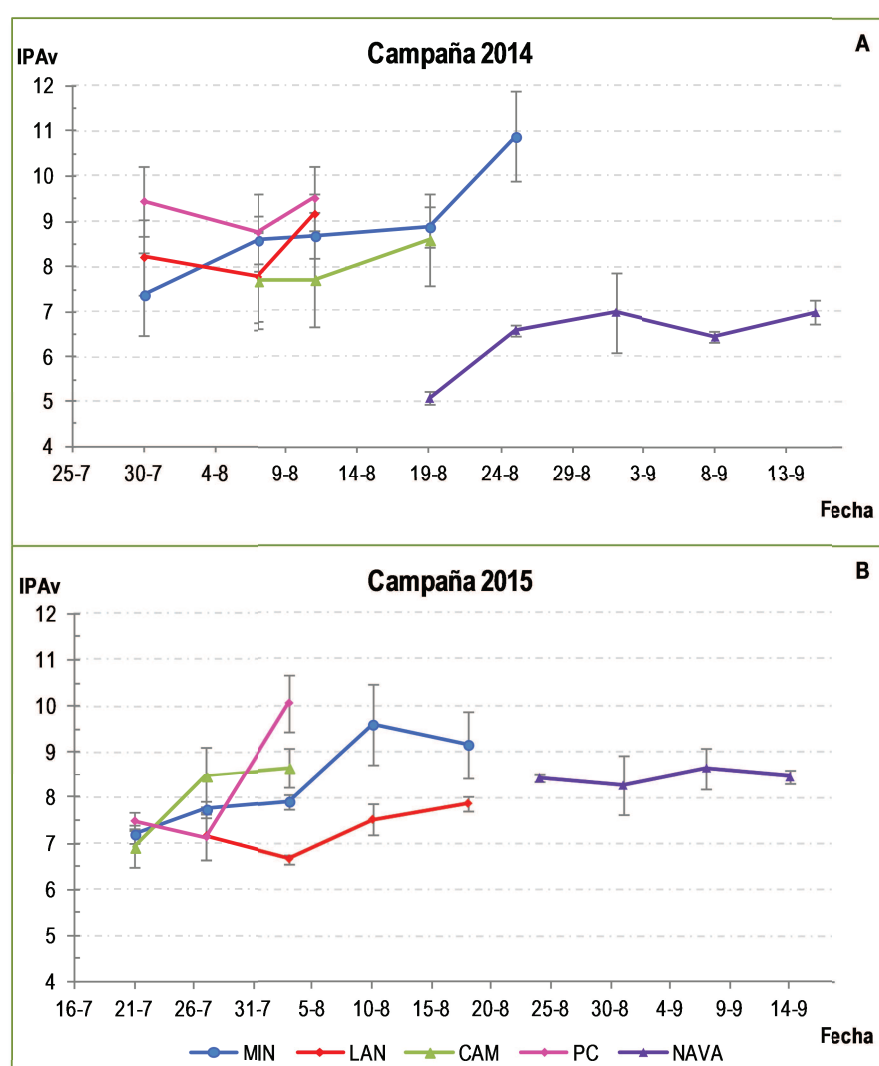


Figura 89. Evolución del IPAv y desviación estándar a lo largo de la maduración de las uvas Albillo de los viñedos La Mina (MIN), Lancha de la Osa (LAN), Camacha (CAM), Peña Caballera (PC) y Navarredonda (NAVA) en las campañas 2014 (A) y 2015 (B) (n=2).

VII.3.2.3. Influencia sobre la composición química de mostos y vinos

Se determinaron los principales parámetros enológicos de mostos y vinos relativos a cada sistema de conducción para cada cultivo ensayado (Tabla 39). Las fluctuaciones climatológicas interanuales y la exposición de los racimos pueden ser fenómenos asociados a diferencias en el pH, acidez titulable, ácido málico, ácido tartárico, acumulación de sólidos solubles (°Brix) y asimilación de nutrientes (NFA) en los mostos y en la composición química de los vinos resultantes entre cultivos con distintos modos de conducción.

En términos de velocidad de acumulación de sólidos solubles (°Brix) el cultivo más eficiente resultó el de conducción en vaso en las dos campañas. Además, el análisis estadístico muestra que el contenido en sólidos solubles, y por lo tanto la concentración de azúcar y el grado alcohólico probable, fue más alto en los mostos de Camacha (2014) y Lancha de la Osa (2015) en comparación con los viñedos en espaldera (Navarredonda y Mina). Estos resultados coinciden con datos sobre microclima de racimos de sistemas más iluminados (Baeza 1994; Bergqvist et al. 2001; Main & Morris 2008), rendimiento de viñedo (Heuvel & Proctor 2004) y estudios sobre el contenido en azúcar en relación con el vigor de las cepas (Filippetti et al. 2013).

Se apreciaron diferencias significativas en la acidez titulable y pH en los dos años entre las tres parcelas de estudio. Los mostos de la finca Navarredonda alcanzaron los mayores niveles de pH y Camacha obtuvo la mejor relación entre los dos parámetros (pH y AT) en la vendimia de 2014. No obstante, todos los mostos obtuvieron una acidez insuficiente para un correcto desarrollo de la fermentación siendo necesario corregirla con ácido tartárico hasta alcanzar un valor en torno a 5-6 g/L de acidez titulable. Con respecto a los niveles de nitrógeno fácilmente asimilable (NFA), los mostos de viñedos en espaldera mostraron niveles significativamente superiores con respecto a los sistemas en vaso. El incremento de la disponibilidad de nitrógeno generalmente induce un mayor crecimiento vegetativo (como ocurre en los viñedos de Navarredonda y La Mina), el cual compite con la translocación de azúcares y acumulación de metabolitos secundarios en la baya. Este hecho también puede interferir en las rutas metabólicas de los compuestos aromáticos de las bayas (Bravdo & Hepner 1986).

Los resultados sugieren una madurez avanzada de las uvas en vaso. En consecuencia, los vinos CAM y LAN alcanzaron mayor grado alcohólico. Las escasas diferencias en los valores de acidez volátil, la cual no se atribuye al sistema de conducción sino a la fermentación, sugieren una tendencia regular en el desarrollo fermentativo de todos los vinos. Los niveles de pH y acidez titulable se encontraron en rangos normales en los vinos teniendo en cuenta que los mostos habían sido corregidos de acidez al inicio de la fermentación. En relación con el contenido en ácido málico, los resultados mostraron que los vinos del viñedo de Navarredonda tuvieron concentraciones significativamente superiores en comparación con MIN, CAM y LAN. Diversos trabajos han relacionado el contenido de ácido málico con la exposición de los racimos. Así, Smart (1986) encontró un aumento de los niveles de ácido málico en mostos y vinos de la variedad Syrah en condiciones de sombreado y Bergqvist et al. (2001) informaron sobre un aumento en

°Brix y pH y descenso de la acidez debido a la degradación de ácido málico en racimos con mayor exposición solar.

Por tanto, los viñedos en vaso alcanzaron mayores niveles de °Brix en mostos y más grado alcohólico en los vinos resultantes. Los valores de pH y acidez titulable sugieren que una maduración más lenta debido a temperaturas más templadas (campaña 2014) favorece la obtención de mostos con mejores niveles de pH y acidez, en nuestro caso, para Albillo Real.

Tabla 39. Composición química de mostos y vinos Albillo de los viñedos con sistema de conducción en espaldera (E) y en vaso (V) en las campañas 2014 y 2015 (media \pm dv) (n=3).

	Parámetros	SC ^a E			V	
		P ^b	NAVA	MIN	CAM	LAN
Mosto 2014	Azúcares (°Brix)		18,6 \pm 0,1 c	23,4 \pm 0,0 b	24,3 \pm 0,0 a	
	Grado alcohólico probable (GAP)		10,3 \pm 0,1 c	13,4 \pm 0,3 b	14,3 \pm 0,0 a	
	pH		3,53 \pm 0,06 a	3,40 \pm 0,02 c	3,40 \pm 0,02 b	
	Acidez titulable (g/L ác. tartárico)		4,1 \pm 0,1 b	3,7 \pm 0,0 c	4,8 \pm 0,0 a	
	NFA (mg/L)		226,3 \pm 6,4 a	228,0 \pm 1,0 a	206,4 \pm 10,0 b	
	Ácido málico (g/L)		2,2	0,7	1,4	
	Ácido tartárico (g/L)		3,6	4,6	3,8	
Mosto 2015	Azúcares (°Brix)		21,6 \pm 1,2 b	21,1 \pm 0,7 b		23,4 \pm 0,1 a
	Grado alcohólico probable (GAP)		12,3 \pm 0,9 b	12,4 \pm 0,4 b		13,6 \pm 0,0 a
	pH		3,51 \pm 0,01 a	3,41 \pm 0,01 ab		3,32 \pm 0,1 b
	Acidez titulable (g/L ác. tartárico)		4,0 \pm 0,0 a	3,2 \pm 0,1 b		2,8 \pm 0,0 c
	NFA (mg/L)		285,6 \pm 5,6 a	212,8 \pm 5,6 b		108,3 \pm 3,3 c
	Ácido málico (g/L)		3,1	0,6		0,6
	Ácido tartárico (g/L)		3,1	4,5		3,5
Vino 2014	Grado alcohólico (% v/v)		10,9 \pm 0,3 c	13,5 \pm 0,2 b	14,2 \pm 0,1 a	
	pH		3,14 \pm 0,03 a	3,02 \pm 0,04 a	2,79 \pm 0,08 b	
	Acidez titulable (g/L ác. tartárico)		5,1 \pm 0,0 c	5,5 \pm 0,1 b	7,1 \pm 0,0 a	
	Acidez volátil (mg/L)		0,2 \pm 0,0 b	0,3 \pm 0,0 a	0,3 \pm 0,0 a	
	Ácido málico (g/L)		1,5 \pm 0,0 a	1,1 \pm 0,0 c	1,4 \pm 0,0 b	
Vino 2015	Grado alcohólico (% v/v)		11,3 \pm 0,2 c	12,7 \pm 0,15 b		14,6 \pm 0,1 a
	pH		3,25 \pm 0,01 a	2,94 \pm 0,02 b		2,95 \pm 0,05 b
	Acidez titulable (g/L ác. tartárico)		6,1 \pm 0,1 a	5,4 \pm 0,0 c		5,8 \pm 0,1 b
	Acidez volátil (mg/L)		0,4 \pm 0,0	0,3 \pm 0,0		0,4 \pm 0,1
	Ácido málico (g/L)		2,0 \pm 0,0 a	0,5 \pm 0,0 b		0,5 \pm 0,0 b

^aSC: sistema de conducción; ^bP: parcela. Valores con distinta letra indican diferencias significativas entre los viñedos de acuerdo con el test de Tukey ($p < 0,05$).

Los resultados del ANOVA (Tabla 40) muestran el efecto significativo del año sobre la acidez titulable de mostos y vinos así como sobre el NFA contenido en los mostos. La mayoría de parámetros analizados presentaron diferencias significativas para el factor sistema de conducción (sólo no resultaron significativos el pH y acidez titulable de mostos y ácido málico en vinos). La interacción entre los dos factores fue significativa para el NFA y la acidez titulable de mostos y vinos lo que indica que la acidez

titulable depende de la acción simultánea de los dos factores. Los resultados del análisis de la varianza para el ácido málico sugieren que su concentración va a depender más de las características del clima que del sistema de conducción empleado.

Tabla 40. Resultados del ANOVA de dos factores calculado para los parámetros enológicos de mostos y vinos Albillo con distinto sistema de conducción siendo los factores año (2014, 2015), sistema de conducción (vaso y espaldera) con su interacción (año*SC).

ANOVA Mosto		Azúcares (°Brix)	pH	Acidez titulable (g/L ác. tartárico)	Grado alcohólico probable (GAP)	NFA (mg/L)
Significancia	Año	Ns	Ns	***	Ns	***
	SC	***	Ns	Ns	***	***
	A*SC	Ns	Ns	***	Ns	***
ANOVA Vino		Grado alcohólico (% v/v)	pH	Acidez titulable (g/L ác. tartárico)	Ácido málico (g/L)	Acidez volátil (mg/L)
Significancia	Año	Ns	Ns	*	Ns	*
	SC	***	**	***	Ns	*
	A*SC	Ns	Ns	***	Ns	Ns

Test de Tukey con niveles de significancia: *, **, *** significación al $p < 0,05$, $p < 0,01$, $p < 0,001$ respectivamente. Ns: no significativo

VII.3.2.4. Influencia sobre la composición aromática de los vinos

Para asignar el efecto del sistema de conducción y el año de recolección sobre la constitución del perfil aromático de los vinos resultantes se evaluó la concentración de compuestos volátiles de los vinos obtenidos a partir de uvas de Albillo Real procedentes de las fincas La Mina y Navarredonda (viñedos en espaldera) y de Camacha y Lancha (viñedos en vaso) en 2014 y 2015 respectivamente.

La Tabla 41 muestra los resultados del análisis de 30 compuestos aromáticos identificados y cuantificados clasificados por familias químicas donde se incluyen aromas varietales (terpenoles y C13-norisoprenoides expresados en $\mu\text{g/L}$) y aromas formados mayoritariamente durante la fermentación (alcoholes, lactonas, ácidos, ésteres y aldehídos y cetonas expresados en mg/L). Los resultados del ANOVA muestran el efecto del sistema de conducción en el 63,3% de los compuestos cuantificados (19 de 30 compuestos). El sistema de conducción en vaso obtuvo la mayor concentración total de volátiles en los dos años de estudio siendo significativamente superior en los vinos LAN (campaña 2015) con respecto a los de espaldera. El efecto del año fue mayor que el del modo de conducción (83,3%; 25 compuestos), el año 2015 alcanzó mayor concentración total de compuestos aromáticos en todos los vinos analizados. La interacción entre los dos factores (sistema de conducción y año) resultó significativa en el 60% de los volátiles estudiados (18 volátiles).

El comportamiento individual de los compuestos mostró diferencias entre los viñedos en los dos años de estudio. Los compuestos terpénicos, característicos de variedades Moscatel, tienen un umbral de percepción olfativa (UPO) muy bajo y están asociados con aromas florales y cítricos (Etievant 1991). Junto

con la familia de los C13-norisoprenoides, sus niveles tienden a ser bajos en variedades neutras (poco aromáticas) como es el caso de Albillo (Sánchez-Palomo et al. 2007a), aún así, los niveles de β -damascenona superaron su umbral de percepción (0,05 $\mu\text{g/L}$) en todos los vinos, siendo especialmente elevadas las concentraciones en MIN y LAN durante 2014 y 2015 respectivamente. Así, como se representa en la Tabla 42, los valores de actividad olfativa (OAV) de este compuesto indican que es un importante contribuyente al aroma de estos vinos. De acuerdo con Guth (1997), el umbral de percepción del terpeno linalol es de 15 $\mu\text{g/L}$, sin embargo, para Ferreira et al. (2000) es de 25 $\mu\text{g/L}$ (en vino sintético), si tenemos en cuenta que Albillo no es una variedad especialmente aromática, resulta significativo el hecho de que los vinos de MIN obtuvieran unos niveles comprendidos entre 15 y 20 $\mu\text{g/L}$ en las dos cosechas. Otros terpenos importantes identificados en todos los vinos fueron α -terpineol y β -citronelol. Ambos resultaron significativamente superiores en el vino de la MIN en 2014, sin embargo, se encontraron muy lejos de su umbral de percepción por lo que no tuvieron impacto significativo en el aroma. En general, los vinos de la MIN en 2014 obtuvieron los mayores niveles de compuestos varietales libres con respecto al resto de cultivos y a la siguiente campaña. El hecho de que en 2015 las concentraciones de aromas varietales fueran inferiores en los vinos de MIN podría estar relacionado con el menor $^{\circ}\text{Brix}$ alcanzado al final de la maduración en 2015 a causa del pedrisco. Boss et al. (2014) informaron acerca de la relación positiva existente entre la acumulación de compuestos varietales (sobretudo monoterpenos) y mayor $^{\circ}\text{Brix}$ alcanzado en las uvas de Riesling. Estos resultados están en consonancia con los obtenidos para el contenido en precursores aromáticos en las uvas de MIN donde se encontró mayor IPA_v en la última muestra de maduración con respecto a las uvas del resto de viñedos estudiados en la campaña 2014 (Figura 89A). En 2015 no se apreciaron diferencias significativas en el contenido total de aromas primarios entre los distintos viñedos.

Los vinos de las viñas en vaso en las dos campañas fueron ricos en alcoholes, especialmente LAN en 2015 (328,3 mg/L) (Tabla 41). De acuerdo con la literatura, esta familia está relacionada con aromas a “fusel” y vegetales con notas amargas y ásperas (Aznar et al. 2001) por lo que su aroma no se caracteriza por ser agradable a excepción del β -feniletanol (aromas florales con atributos de rosas) (Simpson 1979; Etievant 1991). Sin embargo, cuando las concentraciones totales no exceden los 400 mg/L, son considerados por contribuir de forma positiva al aroma global de los vinos (Dubois 1994). Por tanto, teniendo en cuenta estas consideraciones, los niveles totales de la familia de los alcoholes en los vinos de este estudio son adecuados para la constitución del aroma. En casi todos los vinos, el UPO solo fue superado por el alcohol isoamílico (aroma vegetal/herbáceo) y β -feniletanol, este último casi triplicaba su UPO (14 mg/L) en los vinos de LAN 2015 y resultó más elevado en CAM en 2014 (ambos viñedos en vaso) con respecto a MIN y NAVA. Este alcohol, es producido principalmente por el metabolismo de las levaduras durante la fermentación pero también puede encontrarse en las uvas en forma glicosilada (Qian et al. 2009; Song et al. 2014). Los resultados demostraron que el alcohol isoamílico y β -feniletanol fueron los mayores contribuyentes al aroma en todos los vinos (OAV>1) en los dos años de estudio (Tabla 42) resultando especialmente elevados en los viñedos en vaso. Estos resultados corroboran los encontrados por Gil et al.

(2006) que informaron acerca de la influencia del alcohol isoamílico en vinos de la D.O. "Vinos de Madrid". El metionol, compuesto relacionado con aromas desagradables en vinos, mostró valores de OAV superiores a la unidad en Navarredonda durante la vendimia 2015.

Los ésteres son unos de los mayores contribuyentes a al aroma de los vinos confiriendo notas frutales intensas resultando decisivos esencialmente en variedades neutras cuyas características aromáticas vienen determinadas principalmente por aromas generados durante la fermentación (López et al. 2003; Perestrelo et al. 2006; Vilanova et al. 2013). De acuerdo con Swiegers y Pretorius (2005) sólo algunos ésteres (principalmente acetatos de alcoholes de cadena corta) se sintetizan en la uva contribuyendo al aroma de variedades de *Vitis vinifera*. En los vinos estudiados, se apreciaron importantes variaciones en términos de concentración entre los distintos cultivos. En las dos campañas (2014 y 2015) casi todos ésteres, de forma individual, fueron significativamente superiores en los vinos de MIN y por tanto, el contenido global también resultó superior en estos vinos en los dos años. El efecto del sistema de conducción resultó significativo en casi todos los compuestos a excepción de octanoato de etilo, lactato de etilo, 3-hidroxi-butirato de etilo y acetato de 2-feniletilo. Atendiendo a estos resultados, la acumulación de ésteres podría haberse visto beneficiada por un mayor contenido de nutrientes registrado en los mostos procedentes de uvas de viñedos en espaldera (ver Tabla 39) junto con mejores condiciones de luz (mayor exposición de racimos) en el viñedo La Mina, coincidiendo esto último con los resultados obtenidos por Xu et al. (2015) en Cabernet Sauvignon con distintos sistemas de conducción. El efecto del año tuvo un impacto significativo en todos los ésteres excepto para el lactato de etilo y 3-hidroxi-butirato de etilo encontrándose este último en niveles de traza en NAVA y CAM. Los vinos de Navarredonda mostraron un comportamiento distinto entre las dos campañas. Así, en 2014 los compuestos isobutirato de etilo, acetato de isoamilo, hexanoato de etilo y acetato de 2-feniletilo resultaron inferiores con respecto a los vinos de 2015. Esta variación podría explicarse por la infección causada por *Botrytis cinerea* en 2014, hecho que concuerda con previas investigaciones en vinos como producto de uvas botritizadas en los que se producía un descenso de los ésteres como consecuencia de la mayor actividad esterasa en mostos de uvas infectadas (Miklósy et al. 2000; Miklósy & Kerényi 2004; Genovese et al. 2009; Tosi et al. 2012). De acuerdo con los valores de actividad olfativa (Tabla 42), la familia de los ésteres fue la que aportó más compuestos con OAV>1 contribuyendo al aroma de los vinos analizados. Entre ellos destacaron el isovalerato de etilo, acetato de isoamilo y hexanoato de etilo. Otros autores informaron acerca la importancia de esta familia de compuestos en los vinos Albillo Real (Díaz-Regañón 1998; Jurado & Pinilla 2002; Sánchez-Palomo et al. 2007a; Sánchez-Palomo et al. 2007b).

Tabla 41. Composición volátil de los vinos Albillo de viñedos con sistema de conducción en espaldera (E) y en vaso (V) en las campañas 2014 y 2015 (media \pm dv) (n=3).

Compuestos	Año		2014			2015			ANOVA		
	UPO ^b	Ref. ^c	E		V	E		V			
			MIN	NAVA	CAM	MIN	NAVA	LAN	Año	SC	Año*SC
Terpenos (µg/L)											
Linalol	15	a	19,21 ± 0,74 a	4,13 ± 0,32 c	5,71 ± 0,17 b	15,19 ± 0,03 a	10,66 ± 1,96 b	5,35 ± 0,04 c	***	***	***
α-Terpineol	250	b	23,77 ± 4,76 a	Tr c	5,93 ± 0,83 b	Tr c	2,75 ± 0,42 b	6,80 ± 0,97 a	***	**	***
β-Citronelol	100	a	3,09 ± 0,44 a	3,14 ± 0,35 a	1,70 ± 0,60 b	2,01 ± 0,05	2,88 ± 0,35	2,74 ± 0,06	Ns	*	*
C13-norisoprenoides (µg/L)											
β-Damascenona	0,05	a	3,57 ± 0,65 a	2,21 ± 0,31 b	2,21 ± 0,14 b	1,16 ± 0,01 b	0,99 ± 0,18 b	1,42 ± 0,15 a	***	*	**
Total <i>varietales</i>			49,65 ± 3,52 a	9,48 ± 0,59 b	15,55 ± 0,45 b	18,36 ± 0,08	17,28 ± 2,66	16,31 ± 0,98	***	**	***
Alcoholes (mg/L)											
Isobutanol	40	b	16,20 ± 1,55 b	25,28 ± 2,02 a	19,45 ± 2,64 b	18,27 ± 0,47 b	20,52 ± 1,09 b	21,89 ± 1,82 a	*	Ns	Ns
1-Butanol	150	c	1,47 ± 0,11 a	0,63 ± 0,07 b	1,28 ± 0,03 a	0,48 ± 0,05 a	0,24 ± 0,01 b	0,28 ± 0,03 b	***	Ns	*
Alcohol isoamílico	30	b	156,48 ± 2,28	134,50 ± 15,34	187,78 ± 37,19	196,11 ± 9,56 b	184,34 ± 6,25 b	254,76 ± 30,12 a	**	**	Ns
1-Hexanol	8	b	0,37 ± 0,07 b	0,85 ± 0,01 a	0,39 ± 0,08 b	0,72 ± 0,04 b	0,39 ± 0,01 c	1,09 ± 0,20 a	**	**	***
Metionol	1	b	Tr b	Tr b	0,16 ± 0,02 a	0,94 ± 0,06 b	1,55 ± 0,02 a	0,56 ± 0,12 c	***	***	***
Alcohol bencílico	200	d	0,19 ± 0,01 b	0,24 ± 0,05 ab	0,36 ± 0,08 a	0,28 ± 0,02 a	Tr b	Tr b	***	**	**
β-Feniletanol	14	b	15,77 ± 1,09	12,11 ± 1,11	16,06 ± 3,12	15,11 ± 1,61 b	20,45 ± 0,85 b	49,70 ± 9,90 a	***	**	**
Total <i>alcoholes</i>			190,49 ± 1,98	173,64 ± 18,47	225,50 ± 37,75	231,93 ± 10,19 b	227,51 ± 8,21 b	328,30 ± 41,17 a	**	**	Ns
Lactonas (mg/L)											
γ-Butirolactona	35	d	1,00 ± 0,06 b	0,49 ± 0,02 c	1,52 ± 0,23 a	2,53 ± 0,09	2,15 ± 0,05	2,54 ± 0,41	***	*	Ns
Total <i>lactonas</i>			1,00 ± 0,06	0,49 ± 0,02	1,52 ± 0,23	2,53 ± 0,09	2,15 ± 0,05	2,54 ± 0,41			
Ácidos (mg/L)											
Ácido isobutírico	2,3	e	1,63 ± 0,33 b	0,79 ± 0,06 c	1,98 ± 0,32 a	2,16 ± 0,16 b	2,74 ± 0,26 a	2,81 ± 0,12 a	***	**	Ns
Ácido butírico	0,17	b	0,22 ± 0,01	0,16 ± 0,00	0,19 ± 0,04	0,32 ± 0,01	0,29 ± 0,00	0,28 ± 0,01	***	Ns	Ns
Ácido isovalerianoico	0,03	b	2,36 ± 0,06 a	0,35 ± 0,04 c	0,83 ± 0,14 b	1,70 ± 0,04 b	1,93 ± 0,20 b	3,10 ± 0,27 a	***	Ns	***
Ácido hexanoico	0,42	b	6,50 ± 0,92	4,25 ± 0,24	4,42 ± 0,87	6,38 ± 0,85	4,01 ± 0,02	4,78 ± 0,98	Ns	Ns	Ns
Ácido octanoico	0,50	b	6,27 ± 0,23	6,64 ± 1,15	5,74 ± 1,17	10,43 ± 1,36 a	7,30 ± 0,23 b	6,87 ± 1,32 b	Ns	Ns	Ns
Ácido decanoico	1	b	0,33 ± 0,05 b	0,45 ± 0,03 a	0,54 ± 0,02 a	0,96 ± 0,08	0,61 ± 0,05	0,98 ± 0,20	**	Ns	Ns
Total <i>ácidos</i>			17,30 ± 0,53 a	12,64 ± 1,97 b	13,70 ± 1,26 b	21,96 ± 2,23	16,88 ± 0,76	18,83 ± 2,82	*	Ns	*
Ésteres (mg/L)											
Isobutirato de etilo	0,015	b	0,33 ± 0,06 b	0,12 ± 0,02 c	0,63 ± 0,06 a	0,43 ± 0,04 b	0,42 ± 0,08 b	0,83 ± 0,16 a	*	***	Ns
Butirato de etilo	0,02	b	0,67 ± 0,09 a	0,45 ± 0,07 ab	0,40 ± 0,08 b	0,58 ± 0,04 a	0,35 ± 0,01 b	0,43 ± 0,06 b	**	*	**
Isovalerato de etilo	0,003	b	1,14 ± 0,17	1,34 ± 0,29	0,97 ± 0,13	0,63 ± 0,05 b	0,80 ± 0,02 a	0,44 ± 0,05 c	***	**	Ns
Acetato de isoamilo	0,03	b	9,96 ± 1,28 a	2,81 ± 0,52 c	5,64 ± 0,53 b	12,83 ± 0,98 a	6,61 ± 0,11 b	4,96 ± 0,84 b	**	***	*
Hexanoato de etilo	0,01	b	1,90 ± 0,18 a	0,62 ± 0,06 c	1,25 ± 0,23 b	0,80 ± 0,09 a	0,66 ± 0,00 ab	0,48 ± 0,09 b	***	**	*
Acetato de hexilo	1	f	0,11 ± 0,01 b	0,08 ± 0,01 b	0,27 ± 0,05 a	0,33 ± 0,01 a	0,11 ± 0,01 b	0,11 ± 0,02 b	**	**	**
Lactato de etilo	154	c	4,15 ± 0,29 a	1,02 ± 0,07 b	1,01 ± 0,06 b	2,71 ± 0,22 a	1,06 ± 0,15 b	2,45 ± 0,18 a	Ns	Ns	Ns
Octanoato de etilo	0,58	c	1,57 ± 0,13 a	0,70 ± 0,09 b	1,32 ± 0,27 a	1,33 ± 0,12 a	0,83 ± 0,01 b	0,76 ± 0,14 b	***	Ns	Ns
3-Hidroxi-butilato de etilo	20	d	0,20 ± 0,02 a	Tr b	Tr b	0,37 ± 0,04 a	Tr c	0,25 ± 0,03 b	Ns	Ns	**
Succinato de dietilo	1,20	b	0,02 ± 0,00	0,04 ± 0,01	0,04 ± 0,02	0,56 ± 0,09 a	0,19 ± 0,00 c	0,38 ± 0,07 b	***	**	**
Acetato de 2-feniletilo	0,25	b	0,36 ± 0,05 ab	0,23 ± 0,04 b	0,47 ± 0,06 a	0,44 ± 0,04 b	0,67 ± 0,02 a	0,61 ± 0,10 a	***	Ns	*
Total <i>ésteres</i>			20,40 ± 1,72 a	7,40 ± 0,85 c	12,01 ± 1,63 b	21,00 ± 1,14 a	11,71 ± 0,12 b	11,70 ± 1,59 b	Ns	*	Ns
Aldehídos y cetonas (mg/L)											
Diacetilo	0,10	a	1,13 ± 0,12	1,25 ± 0,16	1,12 ± 0,19	1,00 ± 0,11 a	1,10 ± 0,04 a	0,39 ± 0,04 b	***	**	**
Total <i>aldehídos y cetonas</i>			1,13 ± 0,12	1,25 ± 0,14	1,12 ± 0,19	1,03 ± 0,12	1,10 ± 0,04	0,39 ± 0,04			
Total <i>general</i>			230,37 ± 3,37 ab	195,43 ± 21,40 b	253,85 ± 38,45 a	278,46 ± 12,06 b	259,36 ± 8,89 b	361,77 ± 45,48 a	**	**	Ns

SC: sistema de conducción. ^bUPO: umbral de percepción olfativa. Tr: trazas. ANOVA (test de Tukey) de dos factores (sistema de conducción y año) y su interacción (año*SC) con

niveles de significancia: *, **, *** significación al $p < 0,05$, $p < 0,01$, $p < 0,001$ respectivamente, Ns: no significativo. ^cReferencias bibliográficas: a: (Guth 1997), b: (Ferreira et al. 2000), c: (Etievant 1991), d: (Aznar et al. 2003), e: (Nettenbreijer & Gemert 1977), f: (Chaves et al. 2007).

Los ésteres son unos de los mayores contribuyentes a al aroma de los vinos confiriendo notas frutales intensas resultando decisivos esencialmente en variedades neutras cuyas características aromáticas vienen determinadas principalmente por aromas generados durante la fermentación (López et al. 2003; Perestrelo et al. 2006; Vilanova et al. 2013). De acuerdo con Swiegers y Pretorius (2005) sólo algunos ésteres (principalmente acetatos de alcoholes de cadena corta) se sintetizan en la uva contribuyendo al aroma de variedades de *Vitis vinifera*. En los vinos estudiados, se apreciaron importantes variaciones en términos de concentración entre los distintos cultivos. En las dos campañas (2014 y 2015) casi todos ésteres, de forma individual, fueron significativamente superiores en los vinos de MIN y por tanto, el contenido global también resultó superior en estos vinos en los dos años. El efecto del sistema de conducción resultó significativo en casi todos los compuestos a excepción de octanoato de etilo, lactato de etilo, 3-hidroxi-butarato de etilo y acetato de 2-feniletilo. Atendiendo a estos resultados, la acumulación de ésteres podría haberse visto beneficiada por un mayor contenido de nutrientes registrado en los mostos procedentes de uvas de viñedos en espaldera (ver Tabla 39) junto con mejores condiciones de luz (mayor exposición de racimos) en el viñedo La Mina, coincidiendo esto último con los resultados obtenidos por Xu et al. (2015) en Cabernet Sauvignon con distintos sistemas de conducción. El efecto del año tuvo un impacto significativo en todos los ésteres excepto para el lactato de etilo y 3-hidroxi-butarato de etilo encontrándose este último en niveles de traza en NAVA y CAM. Los vinos de Navarredonda mostraron un comportamiento distinto entre las dos campañas. Así, en 2014 los compuestos isobutarato de etilo, acetato de isoamilo, hexanoato de etilo y acetato de 2-feniletilo resultaron inferiores con respecto a los vinos de 2015. Esta variación podría explicarse por la infección causada por *Botrytis cinerea* en 2014, hecho que concuerda con previas investigaciones en vinos como producto de uvas botritizadas en los que se producía un descenso de los ésteres como consecuencia de la mayor actividad esterasa en mostos de uvas infectadas (Miklósy et al. 2000; Miklósy & Kerényi 2004; Genovese et al. 2009; Tosi et al. 2012). De acuerdo con los valores de actividad olfativa (Tabla 42), la familia de los ésteres fue la que aportó más compuestos con OAV>1 contribuyendo al aroma de los vinos analizados. Entre ellos destacaron el isovalerato de etilo, acetato de isoamilo y hexanoato de etilo. Otros autores informaron acerca la importancia de esta familia de compuestos en los vinos Albillo Real (Díaz-Regañón 1998; Jurado & Pinilla 2002; Sánchez-Palomo et al. 2007a; Sánchez-Palomo et al. 2007b).

Tabla 42. Valores de actividad olfativa (OAV) y con los descriptores aromáticos de los compuestos que contribuyen de forma activa en el aroma de los vinos MIN, NAVA, CAM y LAN.

			OAV						
			Año	2014			2015		
			SC ^a	E		V	E		V
				MIN	NAVA	CAM	MIN	NAVA	LAN
	Descriptor sensorial	UPO ^b							
C13-norisoprenoides (µg/L)									
β-Damascenona	Floral, lilas	0,05	71,42	44,27	44,13	23,13	19,87	28,40	
Alcoholes (mg/L)									
Alcohol isoamílico	Vegetal, amargo	30	5,22	4,48	6,26	6,54	6,14	8,49	
Metionol	Cebolla, coliflor	1	< 0,1	< 0,1	0,16	0,94	1,55	0,56	
β-Feniletanol	Rosas	14	1,13	0,87	1,15	1,08	1,46	3,55	
Ácidos (mg/L)									
Ácido isobutírico	Ácido, graso	2,30	0,71	0,34	0,86	0,94	1,19	1,22	
Ácido butírico	Queso	0,17	1,31	0,94	1,11	1,88	1,68	1,65	
Ácido isovalerianico	Queso azul	0,03	78,61	11,83	27,67	56,71	64,17	103,47	
Ácido hexanoico	Queso	0,42	15,48	10,12	10,52	15,20	9,56	11,37	
Ácido octanoico	Rancio	0,50	12,54	13,28	11,49	20,86	14,59	13,74	
Ésteres (mg/L)									
Isobutirato de etilo	Fruta	0,015	21,78	8,24	42,00	28,58	27,90	55,60	
Butirato de etilo	Fruta ácida, manzana	0,02	33,43	22,45	20,12	28,91	17,58	21,63	
Isovalerato de etilo	Fruta, naranja, mora	0,003	379,22	445,66	322,94	209,24	266,01	146,70	
Acetato de isoamilo	Plátano	0,03	331,88	93,51	188,05	427,72	220,46	165,25	
Hexanoato de etilo	Fruta, manzana verde	0,01	189,58	62,09	125,45	79,80	66,49	48,39	
Octanoato de etilo	Fruta, manzana	0,58	2,71	1,21	2,28	2,29	1,44	1,31	
Acetato de 2-feniletilo	Flores, miel	0,25	1,46	0,91	1,90	1,75	2,68	2,44	
Aldehídos y cetonas (mg/L)									
Diacetilo	Mantequilla	0,10	11,33	12,49	11,16	9,98	11,02	3,90	

^aSC: sistema de conducción. ^bUPO: umbral de percepción olfativa

Se considera que los ácidos grasos volátiles se originan principalmente por el metabolismo de levaduras y bacterias durante la fermentación (Etievant 1991). En elevadas concentraciones suelen relacionarse con aromas a queso y rancio (Song et al. 2014), a pesar de ello, son importantes para un correcto equilibrio aromático en los vinos debido a su oposición a la hidrólisis de los ésteres correspondientes (Gil et al. 2006). Al igual que los ésteres, el contenido total de ácidos fue superior en vinos de MIN en las dos campañas (17,30 mg/L y 21,96 mg/L en 2014 y 2015 respectivamente). El sistema de conducción apenas causó efecto sobre el contenido en ácidos, solo el ácido isobutírico mostró diferencias significativas para este factor. Sin embargo, las concentraciones de la mayoría de compuestos resultaron estadísticamente diferentes entre los dos años de estudio presentando las mayores concentraciones totales los vinos de 2015 (Tabla 41). El compuesto mayoritario fue el ácido octanoico en todos los vinos estudiados, pero si tenemos en cuenta el OAV (Tabla 42) el ácido isovalerianico, con un descriptor aromático a queso, fue el más influyente sobre el aroma siendo especialmente elevado en los vinos de LAN (OAV de 103,47) en la vendimia 2015. Resultados similares fueron encontrados por Gil et al. (2006) en vinos jóvenes de la D.O. “Vinos de Madrid”. Shinohara (1985) informó que concentraciones de ácidos grasos volátiles entre 4 y 10 mg/L proporcionaban un aroma suave y agradable a los vinos mientras que si superaban los 20 mg/L aportaban características negativas. En el presente estudio los máximos niveles

fueron alcanzados por el ácido octanoico con una concentración de 10,43 mg/L por lo que el efecto de los ácidos resultaría positivo en el aroma global de estos vinos.

El único representante de la familia de aldehídos y cetonas identificado en todos los vinos fue el diacetilo, compuesto relacionado con aromas mantecosos que aportan carácter cremoso y láctico a los vinos. Debido a su bajo umbral de percepción el OAV superó la unidad en todos los vinos estudiados, especialmente en los vinos de Navarredonda. En cuanto a la familia de las lactonas, compuestos relacionados con aromas a tostado por el contacto con madera durante la fermentación y/o conservación del vino, el único representante fue la γ -butirolactona que en todos los casos se encontró muy lejos de su UPO.

Se aplicó el análisis factorial de componentes principales (ACP) a todos los vinos elaborados durante las dos campañas, para concluir qué compuestos son los que más influyen en la diferenciación de los vinos procedentes de distintos sistemas de conducción.

El ACP puso de manifiesto que la varianza explicada por los tres primeros componentes fue de un 77%. Los dos primeros componentes (C1 y C2) representan el 56,6% de la varianza acumulada con un 31,1% el C1 y 25,5% el C2 por los que se les consideró adecuados para la discusión de los resultados. Las variables más correlacionadas con cada componente principal así como sus coeficientes se muestran en la Tabla 43. Entre las variables más diferenciadoras de los vinos en los dos años se encuentran los alcoholes β -feniletanol y alcohol isoamílico, ácido isovalerianico, isobutirato de etilo y diacetilo, todos ellos altamente correlacionados con el C1 que a su vez se relaciona con los vinos de viñas en vaso (LAN y CAM) y los de Navarredonda en las dos campañas de estudio (Figura 90). Se confirma la influencia del diacetilo (plano negativo del C1) sobre la composición aromática de los vinos Navarredonda y la fuerte relación entre alcoholes y ácidos con los vinos de viñedos en vaso. Los vinos de MIN formaron un grupo notoriamente diferenciado distribuido en C2 cuyas variables más representativas fueron el terpeno linalol y los ésteres hexanoato de etilo, octanoato de etilo y acetato de isoamilo confirmando la relación entre los aromas relacionados con flores (varietales) y frutas (ésteres) en los vinos de MIN.

Tabla 43. Análisis de componente principales aplicado a los compuestos volátiles de los vinos Albillo de las fincas La Mina (MIN), Navarredonda (NAVA), Camacha (CAM) y Lancha de la Osa (LAN) en las campañas 2014 y 2015.

Componente principal	Varianza explicada %	Varianza acumulada (%)	Variables más correlacionadas con cada componente principal (carga factorial > 0,8000)
1	31,1	31,1	β -Feniletanol
			Alcohol isoamílico
			Isobutirato de etilo
			Ácido isovalerianico
			Diacetilo
2	25,5	56,6	Linalol
			Octanoato de etilo
			Acetato de isoamilo
			Hexanoato de etilo

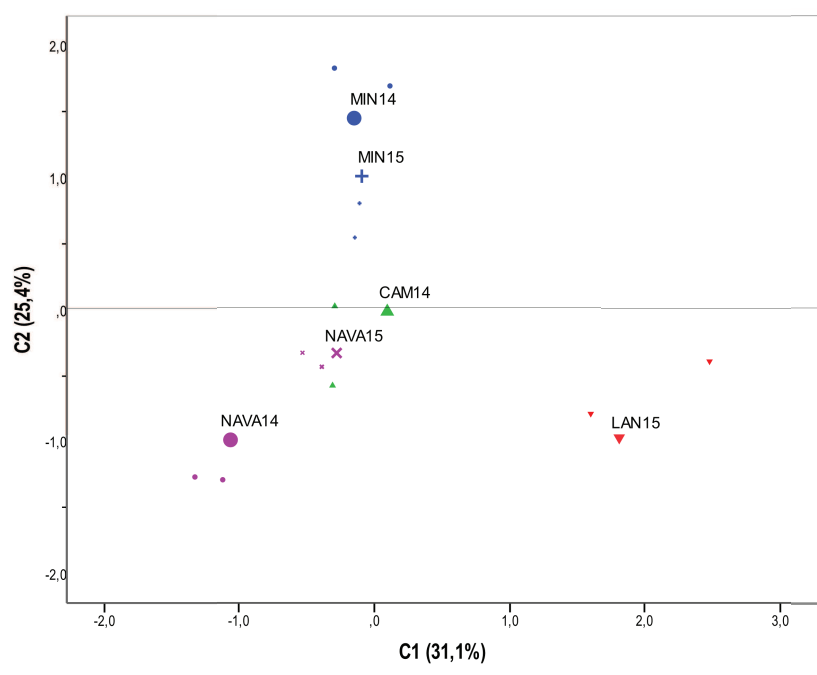


Figura 90. Representación gráfica de los dos componentes principales (C1: 31,1% y C2: 25,4%) de los volátiles de vinos Albillo de las fincas La Mina (MIN), Navarredonda (NAVA), Camacha (CAM) y Lancha de la Osa (LAN) en las campañas 2014 y 2015.

VII.3.2.5. Influencia sobre las características sensoriales de los vinos

Se realizó un análisis de descriptores aromáticos y gustativos de los vinos elaborados en las dos campañas (2014 y 2015) para determinar cómo afectaba el sistema de conducción a las características organolépticas de los vinos Albillo.

El panel de cata, formado por ocho jueces, encontró diferencias significativas en el análisis de descriptores de la fase visual y olfativa entre las distintas elaboraciones de la campaña 2014 (Figura 91A) en los parámetros “intensidad de color”, “intensidad aromática global”, “intensidad de aroma floral” y “calidad global del aroma”, a favor de los vinos de MIN con respecto a CAM y NAVA, e “intensidad de aroma vegetal”, donde NAVA recibió las mayores puntuaciones con respecto a MIN y CAM. En cuanto a las características gustativas (Figura 91B), los vinos MIN recibieron puntuaciones más altas en los atributos “acidez”, “afrutado” y “calidad global del gusto” en comparación con CAM y NAVA. El hecho de que los vinos de NAVA resultasen aromáticamente más vegetales podría deberse al menor grado de madurez alcanzado por las uvas. Por otro lado, la mayor intensidad y calidad del aroma, destacando los atributos florales y el carácter afrutado en los vinos de MIN, estaría relacionado con el mayor valor de IPA_v de las uvas y los niveles más altos de aromas varietales y ésteres en los vinos. Por último, se estableció una clasificación hedónica de los tres vinos. El panel de cata eligió a los vinos MIN (preferido por 6 de los 8 catadores) como los favoritos seguidos de los CAM (2 de los 8 catadores) y en último lugar NAVA (no resultó favorito para ninguno de los jueces).

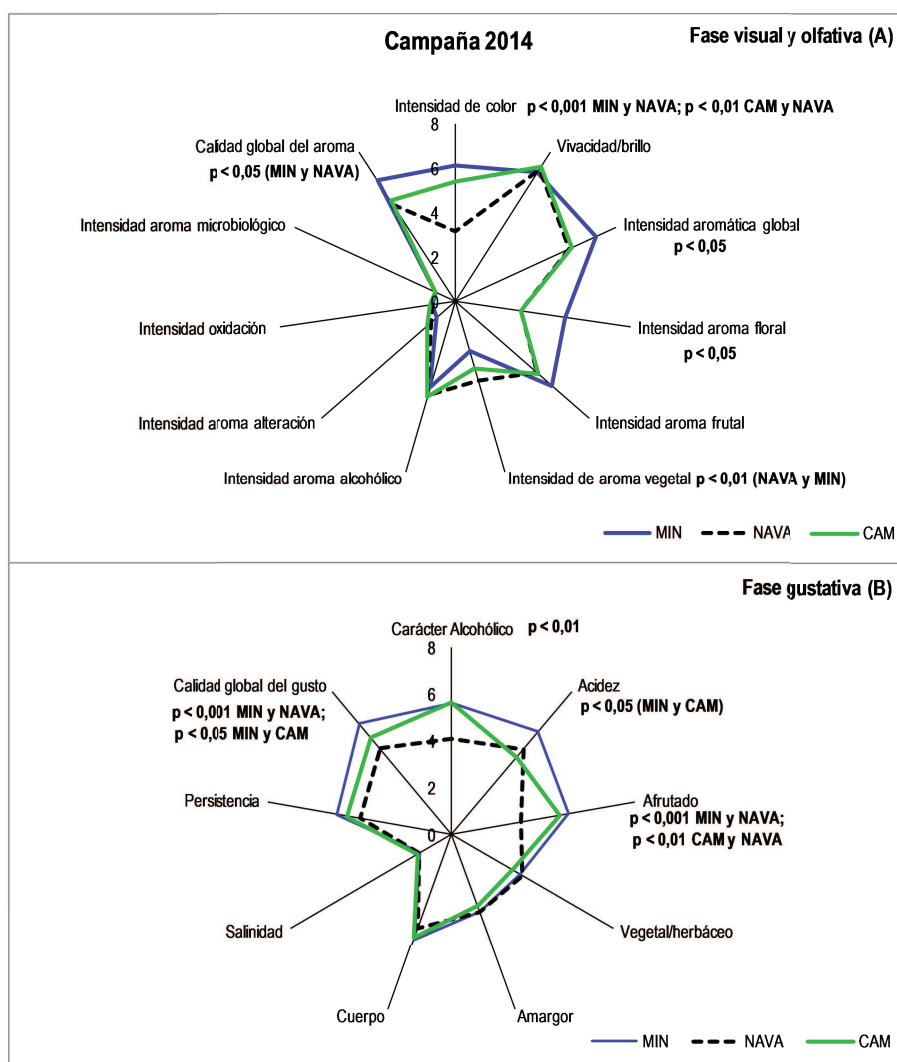


Figura 91. Diagrama sensorial de la fase visual y olfativa (A) y gustativa (B) de los vinos Albillo en espaldera (MIN y NAVA) y vaso (CAM) de la campaña 2014.

En la campaña 2015, el sistema de conducción tuvo menor impacto entre los vinos de los distintos cultivos. Los vinos de NAVA volvieron a resultar significativamente más vegetales con respecto a MIN ($p < 0,05$) y el vino del viñedo en vaso, esta vez LAN ($p < 0,01$), hecho que se reflejó en la fase olfativa (Figura 92A) y gustativa (Figura 92B). También destacaron por su carácter amargo en boca ($p < 0,05$). El análisis de la varianza mostró que los vinos de MIN y LAN resultaron más afrutados que NAVA, en la fase gustativa. Los vinos de LAN, que habían presentado un grado alcohólico significativamente superior con respecto a MINA y NAVA, también resultaron más intensos en nariz y boca en el descriptor alcohólico en las dos etapas de la cata, aromática y gustativa, con significación estadística en la fase olfativa junto a NAVA, ambos con más aroma alcohólico que MIN. Los vinos de MIN mostraron ligeras notas de oxidación que resultaron significativas con respecto a los de LAN. En cuanto a las preferencias hedónicas, el panel de nuevo se decantó por los vinos MIN seguidos de LAN y NAVA. En esta ocasión, las preferencias de los

jueces no estuvieron tan claras. En los comentarios de la ficha de cata, los componentes del panel reflejaron la falta de intensidad aromática de los vinos de la Mina, sin embargo, el equilibrio encontrado entre los distintos parámetros organolépticos que fueron evaluados les hicieron favoritos frente al destacado carácter alcohólico de LAN y vegetal y amargor de los vinos de NAVA.

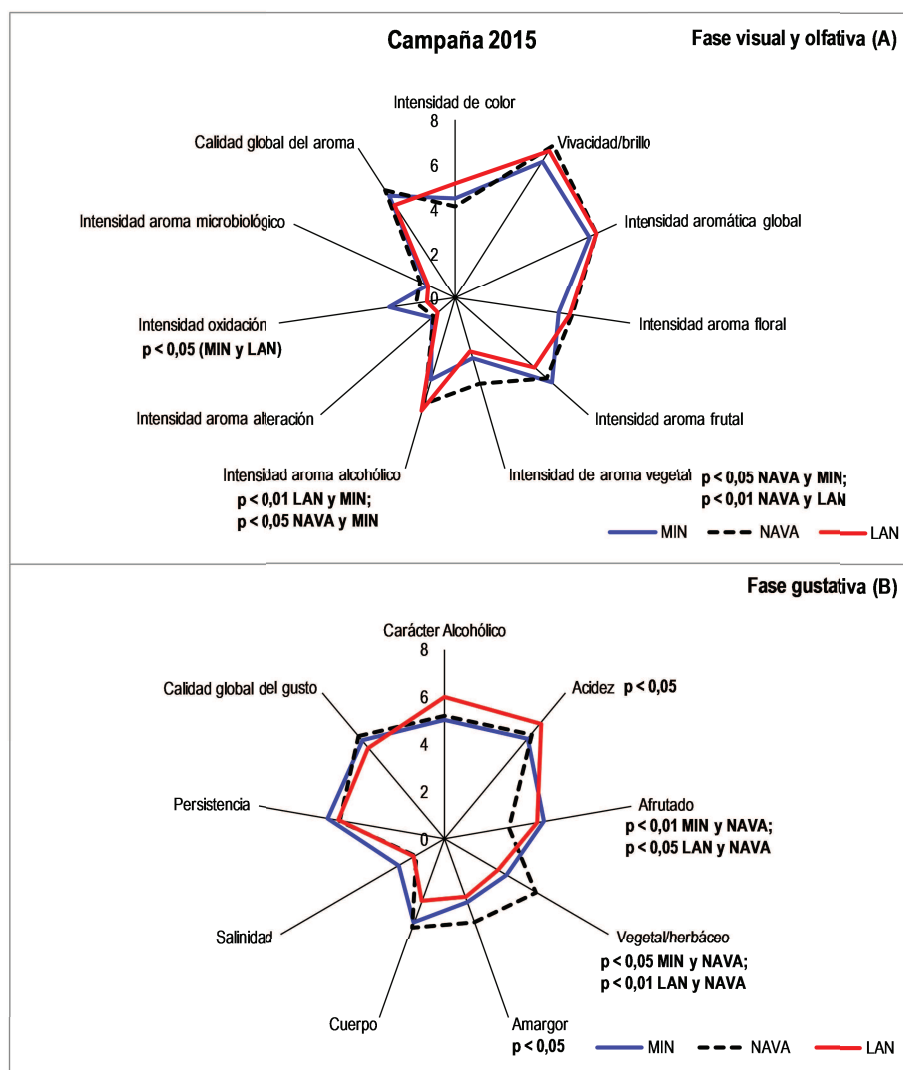


Figura 92. Diagrama sensorial de la fase visual y olfativa (A) y gustativa (B) de los vinos Albillo en espaldera (MIN y NAVA) y vaso (LAN) de la campaña 2015.

Hay muchos estudios acerca del efecto del sistema de conducción sobre la composición química de la uva y los vinos, el microclima de las bayas y el rendimiento de la vid pero pocos acerca de la relación existente entre el sistema de conducción y la calidad de los vinos (Reynolds & Vanden Heuvel 2009). Algunos autores afirman que los cambios inducidos por el modo de conducción sobre las características químicas de los vinos no siempre se corresponden con la calidad sensorial y diferencias entre los atributos organolépticos (Peterlunger et al. 2002; Reynolds et al. 2004; Zoecklein et al. 2008). Otros, demuestran que el sistema de conducción afecta a la acumulación de precursores aromáticos y compuestos volátiles en las

uvas y el vino, afectando así a las características sensoriales de los mismos (Fragasso et al. 2012). En nuestro estudio, el sistema en espaldera con menos vigor y mejores condiciones de iluminación (viñedo de La Mina) se distinguió del otro cultivo en espaldera con más vigor y peores condiciones de iluminación y aireación (Navarredonda) en los atributos relacionados con intensidad de color, flores, fruta, vegetal y calidad global en el año con temperaturas más bajas durante el periodo de maduración (2014), mientras que el vino del viñedo en vaso (Camacha) tuvo características intermedias. Sin embargo, durante la campaña de temperaturas más cálidas en los meses de maduración (2015), el modo de conducción tuvo menos incidencia en las características sensoriales de los vinos, así, el viñedo en vaso (Lancha de la Osa) se distinguió de los de espaldera por sus características alcohólicas y los vinos de Navarredonda por su carácter vegetal y amargo. El viñedo en espaldera de La Mina, que había sufrido graves daños por pedrisco afectando a la maduración, dio lugar a vinos de menor complejidad sensorial con respecto al año anterior.



VIII.

**CONCLUSIONES
CONCLUSIONS**

Conclusiones generales sobre el efecto de las fluctuaciones climáticas interanuales en la evolución de precursores glicosídicos durante la maduración en las bayas de cv. Moscatel de Grano Menudo

1. El año con temperaturas más suaves durante la primavera y maduración y lluvias durante el invierno (2013) dio lugar a un retraso en la maduración, uvas con mejores niveles de pH, acidez y mayor potencial aromático varietal en comparación con las cosechas más cálidas y secas (2014 y 2015).
2. Las fluctuaciones climáticas entre temporadas pueden llevar a diferencias relevantes de calidad entre los vinos producidos a partir de uvas de la misma variedad.
3. La elección del momento adecuado para la cosecha en base a la cinética de la síntesis de compuestos aromáticos en las bayas podría minimizar los efectos negativos de las condiciones climáticas entre temporadas y puede servir de guía a los viticultores y enólogos hacia la optimización de las estrategias vitivinícolas y enológicas para potenciar los atributos aromáticos de las uvas y producir vinos de mejor calidad.

Conclusiones generales sobre la influencia de prácticas enológicas en las características de vinos blancos del cv. Malvasía Aromática

- Sobre la técnica de maceración prefermentativa en frío:
 1. La maceración larga ha tenido un efecto positivo en la extracción de varietales (linalol y β -damascenona) y formación de alcoholes (β -feniletanol) que aportan atributos florales, y contribuye a reducir el contenido de compuestos relacionados con aromas herbáceos (1-hexanol y cis-3-hexen-1-ol). Los mostos tuvieron un ligero enriquecimiento en nitrógeno fácilmente asimilable y, los vinos resultantes se mostraron sensibles a fenómenos de oxidación.
- Sobre el empleo de cepas de levaduras autóctonas:
 1. Las cepas de levaduras autóctonas *Saccharomyces cerevisiae* seleccionadas en la D.O. "Vinos de Madrid" (CLI 271 y CLI 889) pueden ser empleadas para la obtención de vinos del cv. Malvasía Aromática de correcta calidad enológica.
 2. La cepa de levadura CLI 271 ha contribuido a la obtención de vinos con mayor concentración de compuestos que aportan frescor y atributos frutales a los vinos Malvasía (β -feniletanol, acetato de isoamilo y hexanoato de etilo), sin embargo también favorece síntesis de otros relacionados con aromas desagradables (metionol, benzaldehído, 1-butanol).
 3. La cepa de levadura CLI 889 destacó por el carácter floral y afrutado de sus vinos.

- Sobre el empleo de la técnica de crianza sobre lías en vinos Malvasía con distintos métodos de elaboración y levaduras autóctonas:
 1. La combinación de maceración fría prefermentativa y crianza sobre lías de cinco meses para la elaboración de vinos de la variedad Malvasía Aromática puede ser empleada como alternativa a la elaboración convencional con el fin de mejorar la calidad aromática de los vinos debido al aporte de volátiles con atributos agradables como linalol, α -terpineol, geraniol y β -damascenona y algunos ésteres como el succinato de dietilo. Además, fue el vino preferido por el panel de cata.
 2. La crianza sobre lías potencia el carácter floral y afrutado de los vinos Malvasía elaborados con las cepas de levadura CLI 889 y CLI 271 respectivamente.

Conclusiones generales sobre la influencia de prácticas vitícolas en la maduración de las uvas y su relación con las características del vino en la D.O. “Vinos de Madrid”

- Sobre la aplicación de la técnica de deshojado en los cvs. Moscatel de Alejandría, Moscatel de Grano Menudo y Albillo Real:
 1. El deshojado basal en enero ha retrasado la adquisición de azúcares y precursores aromáticos en las bayas de Moscatel de Alejandría a lo largo de la maduración y en Albillo Real en 2016, no así en Moscatel de Grano Menudo.
 2. El deshojado favorece el incremento de compuestos volátiles varietales y de fermentación en los vinos de Moscatel de Alejandría. En Moscatel de Grano Menudo y Albillo no hubo efecto sobre los aromas varietales y los compuestos de fermentación disminuyeron.
 3. El deshojado mejoró las características sensoriales varietales de los vinos Moscatel de Alejandría y Albillo Real en el año más cálido y menos lluvioso (2015).
- Sobre la influencia del sistema de conducción en distintos cvs. Albillo Real:
 1. El sistema de conducción en espaldera con condiciones favorables de iluminación y aireación propició una lenta y mayor acumulación de precursores aromáticos en las bayas con respecto a los viñedos en vaso en el año con temperaturas más suaves (2014), los vinos resultantes contienen una presencia importante de terpenos (linalol) y ésteres (octanoato de etilo, hexanoato de etilo y acetato de isoamilo) y fueron los mejor valorados por el panel de cata en el análisis sensorial.
 2. Los viñedos en vaso presentan mayor ritmo de maduración tecnológica y aromática de las uvas que da lugar a vinos con mayor grado alcohólico y cuyo perfil aromático está fuertemente relacionado con volátiles de las familias de alcoholes (alcohol isoamílico y β -feniletanol) y ácidos (ácido octanoico e isovalerianico).

General conclusions about the influence of seasonal climate fluctuations on the evolution of glycoconjugates along the ripening period of grapevine cv. Moscatel de Grano Menudo berries

1. A year with milder temperatures during the spring and ripening and late rains during veraison (2013) have caused a delay in the ripening process, grapes with better pH levels, total titratable acidity and varietal aroma potential in comparison with warmer and driest vintages (2014 and 2015).
2. Climate fluctuations among seasons may lead to relevant quality differences between wines produced from grapes of the same cultivar.
3. Choosing the right time for harvesting on the bases of the kinetics of volatile compounds production in berries could minimize the negative effects of climate conditions between seasons, and it may guide grape growers and winemakers towards the optimization of vineyard strategies to potentiate grape aroma attributes to produce wines of better quality.

General conclusions about the influence of oenological practices on the characteristics of cv. Malvasía Aromática wines

- Regarding the effect of low-temperature skin-contact treatment:
 1. A long skin-contact time had a positive effect on the extraction of varietal aroma (linalool and β -damascenone) and the synthesis of alcohols (β -phenylethanol) which gave floral attributes to the wine, and it also contributed to the reduction of the content of compounds associated to herbaceous aromas (1-hexanol and cis-3-hexen-1-ol). The must was slightly richer in assimilable nitrogen, and the resulting wines were sensitive to oxidation.
- About the use of autochthonous-selected yeast strains:
 1. The use of autochthonous *Saccharomyces cerevisiae* yeasts selected in the D.O. "Vinos de Madrid" (strains CLI 271 and CLI 889) may be use to winemaking wines from cv. Malvasía Aromática showing an overall correctoenological quality.
 2. The use of yeast strain CLI 271 gave wines with a higher concentration of compounds related to freshness and fruit attributes typical of Malvasia wines (β -phenylethanol, isoamyl acetate and ethyl hexanoate), however it also favored the synthesis of other compounds related to unpleasant aromas such as methionol, benzaldehyde, 1-butanol.
 3. Wines obtained with the strain CLI 889 was qualified as more floral and fruity.
- Concerning the contact time with lees on Malvasia wines using different winemaking practices and autochthonous yeasts:
 1. The combination of low-temperature skin-contact treatment and aging on lees along five months to elaborate wines of the variety Malvasía Aromática may be use as alternative to

conventional winemaking to improve the aroma quality of Malvasia Aromatica wines due to the presence of volatile molecules as linalool, α -terpineol, geraniol and β -damascenone, and some esters such as diethyl succinate responsible for pleasant attributes. In addition, this wine was the best evaluated by the tasting panel.

2. A contact time with lees enhanced the floral and fruity character of Malvasia wines fermented with yeast strains CLI 889 and CLI 271 respectively.

General conclusions about the influence of viticultural practices on grapes ripening as related to the characteristics of wine in the D.O. "Vinos de Madrid"

- Concerning the application of leaf removal in cvs. Moscatel de Alejandría, Moscatel de Grano Menudo and Albillo Real:
 1. Basal leaf removal delayed the synthesis of sugars and aroma precursors in the Moscatel de Alejandría berries throughout the ripening process and in Albillo Real in 2016 but had no impact on Moscatel de Grano Menudo.
 2. Leaf removal treatment favors the increase most of varietal and fermentation aroma compounds in Moscatel de Alejandría wines. In Moscatel de Grano Menudo and Albillo Real there was no effect on the varietal aromas and the fermentation volatile compounds decreased.
 3. Leaf removal practices improved the sensory characteristics of Moscatel de Alexandria wines and Albillo Real during the warmer and driest year (2015).
- Regarding the influence of trellis system in different cvs. Albillo Real:
 1. The spalier (bilateral cordon) trellis system under favorable light and air conditions led to a slower and greater accumulation of aromatic precursors in berries compared with bush vineyards in the milder temperatures season (2014). The resulting wines gained a significant amount of terpenes (linalol) and esters (ethyl octanoate, ethyl hexanoate and isoamyl acetate) and were the best evaluated by the tasting panel in the sensory analysis.
 2. The bush vineyards show a rapid technological and aromatic ripening of grapes. The resulting wines reached a higher alcoholic degree than spalier vineyards and their aroma profile was strongly related to volatiles from the families of alcohols (isoamyl alcohol and β -phenylethanol) and acids (octanoic and isovalerianic acid).



IX.

BIBLIOGRAFÍA

- Adams, D., 2006. Phenolics and ripening in grape berries. *American Journal of Enology and Viticulture*, 57(3), pp.249–256.
- Aldave, L., 1992. Effects de la macération pelliculaire sur cépages Vermentino et Semillon. *Revue française d'oenologie*, 32(135), pp.9–15.
- Allen, M. et al., 1991. Contribution of Methoxypyrazines to Sauvignon blanc Wine Aroma. *American Journal of Enology and Viticulture*, 42(2), pp.109–112.
- Allen, M.S., Lacey, M.J. & Boyd, S.J., 1995. Methoxypyrazines in red wines: occurrence of 2-methoxy-3-(1-methylethyl) pyrazine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43(3), pp.769–772.
- Amerine, M.A. & Winkler, A.J., 1994. Composition and quality of must and wines of California grapes. *Hilgardia*, 15(6), pp.493–675.
- Amerine, M. & Roessler, E., 1976. Composition of wines. In M.A. Amerine and E.B. Roessler, ed. *Wines. Their sensory evaluation*. New York: W.H Freeman, pp. 72–77.
- Anzaldúa-Morales, A., 2005. *La evaluación sensorial de los alimentos en la teoría y la práctica* 1st ed., Zaragoza: Acribia, p.198
- Arnold, R. & Bledsoe, A., 1990. The effect of various leaf removal treatments on the aroma and flavor of Sauvignon blanc wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, 41(1), pp.74–76.
- Asenjo, J.L. et al., 2004. Consecuencias del deshojado bilateral sobre la maduración de la uva tempranillo en condiciones de elevado rendimiento. *La Semana vitivinícola*, 3002, pp.566–572.
- Atienza, M.J. et al., 1999. *La espectrometría de masas y el aroma del vino*, Valencia, España: Universidad Politécnica de Valencia.
- Aznar, M. et al., 2001. Identification and quantification of impact odorants of aged red wines from Rioja. GC-olfactometry, quantitative GC-MS, and odor evaluation of HPLC fractions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(6), pp.2924–2929.
- Aznar, M. et al., 2003. Prediction of Aged Red Wine Aroma Properties from Aroma Chemical Composition. Partial Least Squares Regression Models. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(9), pp.2700–2707.
- Aznárez, J., Martínez, J. & Guerediaga, A., 1999. Evolución de la composición aromática de los vinos de Tempranillo durante el proceso de envejecimiento: IV Congreso Nacional de Enólogos. *La Semana vitivinícola*, 2768, pp.2975–2980.
- Baeza, P., 1994. *Caracterización ecofisiológica y evaluación agronomica de diferentes sistemas de conducción del viñedo (Vitis vinifera L.) en regadío*. Universidad Politécnica de Madrid.
- Baillo, M. & Baggolini, M., 1993. Les stades repères de la vigne. *Rev. Suisse Vitic. Arboric. Hortic*, 25(1), pp.10–12.
- Balboa-Lagunero, T. et al., 2013. Yeast selection as a tool for reducing key oxidation notes in organic wines. *Food Research International*, 53(1), pp.252–259.
- Barata, A., Campo, E. & Malfeito-Ferreira, M., 2011. Analytical and sensorial characterization of the aroma of wines produced with sour rotten grapes using GC-O and GC-MS: identification of key aroma

- compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(6), pp.2543–2553.
- Del Barrio-Galán, R. & Sánchez-Iglesias, M., 2010. Efecto de la aplicación de diferentes derivados de levadura comerciales sobre la calidad de los vinos blancos. *Enoviticultura*, (3), pp.14–22.
- Baumes, R. et al., 2002. Biogenesis of C13-norisoprenoid compounds: experiments supportive for an apo-carotenoid pathway in grapevines. *Analytica Chimica Acta*, 458(1), pp.3–14.
- Baumes, R. et al., 1986. Identification and determination of volatile constituents in wines from different vine cultivars. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 37(9), pp.927–943.
- Baumes, R., 2009. Wine Aroma Precursors. In *Wine Chemistry and Biochemistry*. New York, NY: Springer New York, pp. 251–274.
- Bautista, R., Fernández, E. & Falqué, E., 2007. Effect of the contact with fermentation-lees or commercial-lees on the volatile composition of white wines. *European Food Research and Technology*, 224(4), pp.405–413.
- Bayonove, C., 2003. El aroma varietal: El potencial aromático de la uva. In C. Flanzy, ed. *Fundamentos científicos y tecnológicos*. Madrid, España: Mundi-Prensa, pp. 137–146.
- Bayonove, C., 1993. Les composés terpeniques. In B. Doneche, ed. *Les acquisitions récentes en chromatographie du vin. Application à l'analyse sensorielle des vins*. pp. 99–119.
- Bayonove, C. & Cordonnier, R., 1971. Researches on Aroma of Muscat. 3. Study of Terpenic Fraction. *Annales de Technologie Agricole*, 20(4), p.347.
- Bayonove, C., Cordonnier, R. & Dubois, P., 1975. Etude d'une fraction caractéristique de l'arôme du raisin de la variété Cabernet-Sauvignon: mise en évidence de la 2-méthoxy-3-isobutylpyrazine. *CR Acad. Sci.*, 281, pp.75–78.
- Belancic, A. & Agosin, E., 2007. Methoxypyrazines in Grapes and Wines of *Vitis vinifera* cv. Carmenere. *American Journal of Enology and Viticulture*, 58(4).
- Belancic, A., Agosin, E. & Ibacache, A., 1997. Influence of sun exposure on the aromatic composition of Chilean Muscat grape cultivars Moscatel de Alejandria and Moscatel rosada. *American Journal of Enology and Viticulture*, 41(2), pp.181–186.
- Bem, B.P. de et al., 2015. Effect of Y-trellis and vertical shoot positioning training systems on downy mildew and botrytis bunch rot of grape in highlands of southern Brazil. *Scientia Horticulturae*, 185, pp.162–166.
- Benavent, J.L., 2006. *La cultura del vino cata y degustación* 3rd ed., Valencia: Universidad Politécnica de Valencia, Escuela Técnica Superior del Medio Rural y Enología, Departamento de Tecnología de Alimentos.
- Bergqvist, J., Dokoozlian, N. & Ebisuda, N., 2001. Sunlight Exposure and Temperature Effects on Berry Growth and Composition of Cabernet Sauvignon and Grenache in the Central San Joaquin Valley of California. *American Journal of Enology and Viticulture*, 52(1), pp. 1-7.
- Bindon, K. et al., 2013. Relationships between harvest time and wine composition in *Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon 1. Grape and wine chemistry. *Food Chemistry*, 138(2), pp.1696–1705.

- Blázquez, J., 2011. *Historia económica de España en la Antigüedad*, Madrid.
- Bledsoe, A. & Kliewer, W., 1988. Effects of timing and severity of leaf removal on yield and fruit composition of Sauvignon blanc grapevines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 39(1), pp.49–54.
- Blouin, J. & Guimberteau, G., 2004. *Maduración y madurez de la uva*. Madrid, España: Mundi-Prensa, p. 151.
- Boido, E. et al., 2002. Effect of β -Glycosidase Activity of *Oenococcus oeni* on the Glycosylated Flavor Precursors of Tannat Wine during Malolactic Fermentation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(8), pp.2344–2349.
- Bonada, M. et al., 2015. Impact of elevated temperature and water deficit on the chemical and sensory profiles of Barossa Shiraz grapes and wines. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 21(2), pp.240–253.
- Bonino, M. et al., 2003. Aroma compounds of an Italian wine (Ruché) by HS-SPME analysis coupled with GC-ITMS. *Food Chemistry*, 80(1), pp.125–133.
- Boss, P.K., Böttcher, C. & Davies, C., 2014. Various influences of harvest date and fruit sugar content on different wine flavor and aroma compounds. *American Journal of Enology and Viticulture*, 65(3), pp.341–353.
- Botting, D., Dry, P. & Iland, P., 1996. Canopy architecture-implications for Shiraz grown in a hot, arid climate. *Australian and New Zealand Grape grower and Winemaker*, 390a, pp.53–57.
- Bravdo, B. & Hepner, Y., 1987. Irrigation management and fertigation to optimize grape composition and vine performance. *Acta Horticulturae*, 206, pp.49–68.
- Bubola, M. et al., 2009. Effects of partial defoliation at different stages on yield and fruit composition of cv. Istrian Malvasia. In *Proceedings of the 16th International GiESCO Symposium*. Davis(California), pp. 295–298.
- Bueno, J.E. et al., 2006. Effect of a Short Contact Time With Lees on Volatile Composition of Airen and Macabeo Wines. *Biotechnology Letters*, 28(13), pp.1007–1011.
- Bureau, S., Baumes, R. & Razungles, A., 2000a. Effects of Vine or Bunch Shading on the Glycosylated Flavor Precursors in Grapes of *Vitis vinifera* L. Cv. Syrah. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(4), pp.1290–1297.
- Bureau, S., Razungles, A. & Baumes, R., 2000b. The aroma of Muscat of Frontignan grapes: effect of the light environment of vine or bunch on volatiles and glycoconjugates. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(14), pp.2012–2020.
- Buttrose, M., 1970. Fruitfulness in grapevines: development of leaf primordia in buds in relation to bud fruitfulness. *Botanical gazette*, 131(1), pp.78–83.
- Cabaroglu, T. et al., 1997. Aroma Composition of a White Wine of *Vitis vinifera* L. cv. Emir as Affected by Skin Contact. *Journal of Food Science*, 62(4), pp.680–683.
- Cabaroglu, T. et al., 2003. Wine flavor enhancement through the use of exogenous fungal glycosidases. *Enzyme and Microbial Technology*, 33(5), pp.581–587.

- Cabaroglu, T. & Canbas, A., 2002. Effects of skin-contact on aromatic composition of the white wine of *Vitis vinifera* L. cv. Muscat of Alexandria grown in Southern Anatolia. *Acta Alimentaria*, 31(1), pp.45–55.
- Cabello, F. et al., 2012. *Variedades de vid en España*, 1st ed., Madrid, España: Agrícola Española, p.504.
- Cacho, J., 2003. El vino y su composición y nuestros sentidos. Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas, Químicas y Naturales de Zaragoza (España) 47, pp.13.
- Callejon, R.M. et al., 2010. Volatile and sensory profile of organic red wines produced by different selected autochthonous and commercial *Saccharomyces cerevisiae* strains. *Analytica Chimica Acta*, 660(1–2), pp.68–75.
- Câmara, J.. et al., 2004. Varietal flavour compounds of four grape varieties producing Madeira wines. *Analytica Chimica Acta*, 513(1), pp.203–207.
- Carbonell-Bejerano, P. & Diago, M., 2014. Solar ultraviolet radiation is necessary to enhance grapevine fruit ripening transcriptional and phenolic responses. *BMC Plant Biology*, 14(1), p.183.
- Carbonell-Bejerano, P. & María, E.S., 2013. Thermotolerance responses in ripening berries of *Vitis vinifera* L. cv Muscat Hamburg. *Plant and Cell Physiology*, 54(7), pp.1200–1216.
- Carrascosa, A.V. et al., 2012. Influence of locally-selected yeast on the chemical and sensorial properties of Albariño white wines. *Food Science and Technology*, 46(1), pp.319–325.
- Carrau, F.M., 2005. Levaduras nativas para enología de mínima intervención: biodiversidad, selección y caracterización. *Agrociencia*, 9(1–2), pp.387–399.
- Carrau, F.M., Gioia, O. & Neirotti, E., 1988. Importancia del fenomeno “killer” en la poblacion de levaduras dominantes en la vinificacion a nivel industrial. In *III Simp. Latin. Vitic. Enol.* Mendoza, Argentina, pp. 1–10.
- Casal del Rey, J., 2001. *Análisis sensorial y cata de los vinos de España*. Unión Española de Catadores, ed., Madrid: Agrícola Española, p.365.
- Castro, L., Pérez-Coello, M. & Cabezudo, M., 2002. Effects of enzyme treatment and skin extraction on varietal volatiles in Spanish wines made from Chardonnay, Muscat, Airen and Macabeo grapes. *Analytica Chimica Acta*, 458(1), pp.39–44.
- Chacon, J., Martínez, J. & García, E., 2009. Comportamiento de la variedad Malvasía Aromática en el centro de la península ibérica. In *III Simposio Internacional “Malvasías.”* La Palma, Islas Canarias, España.
- Chalier, P. et al., 2007. Interactions between aroma compounds and whole mannoprotein isolated from *Saccharomyces cerevisiae* strains. *Food Chemistry*, 100(1), pp.22–30.
- Charpentier, C. & Feuillat, M., 1993. Yeast autolysis. In: Fleet, G.H ed. *Wine microbiology and biotechnology*, Chur, Switzerland: Harwood Academic Publishers, pp. 225–242.
- Charpentier, C., Dos Santos, A.M. & Feuillat, M., 2004. Release of macromolecules by *Saccharomyces cerevisiae* during ageing of French flor sherry wine “Vin jaune.” *International Journal of Food Microbiology*, 96(3), pp.253–262.
- Chassagne, D. et al., 2005. Sorption of wine volatile phenols by yeast lees. *Food Chemistry*, 91(1), pp.39–

44.

- Chatonnet, P., 2000. La contamination des vins par *Brettanomyces* au cours de la vinification et de l'élevage incidence, détection et moyens de lutte. *Revue des oenologues et des techniques*, 27(96), pp.23–26.
- Chatonnet, P., Boidron, J.N. & Pons, M., 1990. Elebage des vins rouges en fûts de chêne: évolution de certains composés volatils et de leur impact aromatique. *Sciences des aliments*, 10(3), pp.565–587.
- Chaves, M. et al., 2007. Changes in Color and Odorant Compounds during Oxidative Aging of Pedro Ximenez Sweet Wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(9), pp.3592–3598.
- Chorti, E., Guidoni, S. & Ferrandino, A., 2010. Effect of different cluster sunlight exposure levels on ripening and anthocyanin accumulation in Nebbiolo grapes. *American Journal of Enology and Viticulture*, 61(1), pp.23–30.
- Ciani, M. & Rosini, G., 1987. The determination of alcohol capacity of wine-making yeast strain. *Annali Facoltà di Agraria Università di Perugia*, 41, pp.753–762.
- Cifre, J. et al., 2005. Physiological tools for irrigation scheduling in grapevine (*Vitis vinifera* L.): An open gate to improve water-use efficiency?. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 106(2), pp.159–170.
- Coelho, E. et al., 2006. Headspace-SPME applied to varietal volatile components evolution during *Vitis vinifera* L. cv. "Baga" ripening. *Analytica Chimica Acta*, 563(1), pp.204–214.
- Coelho, E. et al., 2007. Screening of variety-and pre-fermentation-related volatile compounds during ripening of white grapes to define their evolution profile. *Analytica Chimica Acta*, 597(2), pp.257–264.
- Cohen, S. & Kennedy, J., 2010. Plant Metabolism and the Environment: Implications for Managing Phenolics. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 50(7), pp.620–643.
- Coipel, J. et al., 2006. << Terroir >> effect, as a result of environmental stress, depends more on soil depth than on soil type (*Vitis vinifera* L. Cv. Grenache noir, Cotes du Rhone, France, 2000). *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, 40(4), p.177.
- Conde, C. et al., 2007. *Biochemical changes throughout grape berry development and fruit and wine quality* "Food." Global Science Books, ed., Global Science Books, 1, pp. 1-22.
- Coombe, B.G. & McCarthy, M.G., 2000. Dynamics of grape berry growth and physiology of ripening. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 6(2), pp.131–135.
- Cordero-Bueso, G. et al., 2016. Improvement of Malvar Wine Quality by Use of Locally-Selected *Saccharomyces cerevisiae* Strains. *Fermentation*, 2(1), p.7.
- Cordonnier, R. & Bayonove, C., 1981. Etude de la phase préfermentaire de la vinification: extraction et formation de certains composés de l'arôme; cas des terpénols, des aldéhydes et des alcools. *OENO One*, 15(4), pp.269–286.
- Cordonnier, R. & Bayonove, C., 1974. Mise en évidence dans la baie de raisin, variété Muscat d'Alexandrie, de monoterpènes liés révélables par une ou plusieurs enzymes du fruit. *CR Acad. Sci. Paris*, 278, pp.3387–3390.
- Coulter, A.D. et al., 2008. When the heat is on, yeast fermentation runs out of puff. *Australian and New Zealand Wine Industry Journal*, 23(2).

- Crespo, J. et al., 2016a. Influencia de deshojado en el índice de potencial aromático varietal y en la composición volátil en Moscatel de Alejandría. In *31ª Reunión GTEVE*. Madrid, España.
- Crespo, J. et al., 2016b. Pérdida de compuestos volátiles en los primeros meses tras la elaboración con Moscatel de Grano Menudo en la D.O. "Vinos de Madrid." In *XVII Congreso Nacional de Enólogos*. Mérida, España.
- Cuadros-Inostroza, A. et al., 2010. Discrimination of Wine Attributes by Metabolome Analysis. *Analytical Chemistry*, 82(9), pp.3573–3580.
- Culleré, L., Cacho, J. & Ferreira, V., 2004. Analysis for wine C5–C8 aldehydes through the determination of their O-(2,3,4,5,6-pentafluorobenzyl) oximes formed directly in the solid phase extraction cartridge. *Analytica Chimica Acta*, 524(1), pp.201–206.
- D'Onofrio, C., Matarese, F. & Cuzzola, A., 2016. Study of the terpene profile at harvest and during berry development of *Vitis vinifera* L. aromatic varieties Aleatico, Brachetto, Malvasia di Candia aromatica and Moscato bianco. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(9), pp.2898-2907.
- Dapcich, V. et al., 2004. *Guía de la alimentación saludable*. Madrid, España: Sociedad Española de Nutrición Comunitaria (SENC). Disponible en: http://www.aesan.mspsi.es/AESAN/docs/docs/publicaciones_estudios/nutricion/guia_alimentacion.pdf
- De Calle García, D. et al., 1998. Use of solid-phase microextraction-capillary-gas chromatography (SPME-CGC) for the varietal characterization of wines by means of chemometrical methods. *Journal of Analytical Chemistry*, 360(7–8), pp.784–787.
- De la Fuente, M., Linares, R. & Baeza, P., 2007. Efecto del sistema de conducción en climas semiáridos sobre la maduración, composición de la baya y la exposición de los racimos en *Vitis vinifera* L. cv. *Enología*, 4, pp.1–9.
- Deluc, L., Quilici, D. & Decendit, A., 2009. Water deficit alters differentially metabolic pathways affecting important flavor and quality traits in grape berries of Cabernet Sauvignon and Chardonnay. *BMC genomics*, 10(1), p.212.
- Demyttenaere, J. et al., 2003. Flavour analysis of Greek white wine by solid-phase microextraction–capillary gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 985(1), pp.233–246.
- Díaz-Regañón, D., 1998. Adsorption-Thermal Desorption-Gas Chromatography Applied to Volatile Compounds of Madrid Region Wines. *Journal of Food Composition and Analysis*, 11(1), pp.54–69.
- Diéguez, S.C. et al., 2003. Aromatic composition of the *Vitis vinifera* grape Albariño. *Food Science and Technology*, 36(6), pp.585–590.
- Doco, T. et al., 2003. Structural Modification of Wine Arabinogalactans during Aging on Lees. *American Journal of Enology and Viticulture*, 54(3), pp.150–157.
- Dokoozlian, N. & Kliewer, W., 1996. Influence of light on grape berry growth and composition varies during fruit development. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 121(5), pp.869–874.
- Dokoozlian, N.K. & Kliewer, W.M., 1995a. The light environment within grapevine canopies. I. Description and seasonal changes during fruit development. *American Journal of Enology and Viticulture*, 46(2),

- pp.209–218.
- Dokoozlian, N.K. & Kliever, W.M., 1995b. The light environment within grapevine canopies. II. Influence of leaf area density on fruit zone light environment and some canopy assessment parameters. *American Journal of Enology and Viticulture*, 46(2), pp.219–226.
- Downey, M.O., Dokoozlian, N.K. & Krstic, M.P., 2006. Cultural Practice and Environmental Impacts on the Flavonoid Composition of Grapes and Wine: A Review of Recent Research. *American Journal of Enology and Viticulture*, 57(3), pp.257–268.
- Dubois, P., 1994. Les arômes des vins et leurs défauts. *Revue française d'oenologie*, 34(145), pp.27–41.
- Dubordieu, D. & Darriet, P. & Lavigne, V., 1993. Recherches sur l'arôme variétal du cépage Sauvignon. In: *Proceedings of the 10 th Int. Oenol. Symp.* E. Lemperle (Ed.), pp. 405-416.
- Duchêne, E. et al., 2016. Consequences of elevated temperatures during ripening on the biosynthesis of monoterpenols in grape berries. In *Sustainable grape and wine production in the context of climate change-Climwine 2016*. Bordeaux, France, pp. 74.
- Duchêne, E. & Schneider, C., 2005. Grapevine and climatic changes: a glance at the situation in Alsace. *Agronomy for sustainable*, 25(1), pp.93–99.
- Duteau, J., Guilloux-Benatier, M. & Seguin, G., 1981. Influence des facteurs naturels sur la maturation du raisin, en 1979, à Pomerol et Saint-Emilion. *OENO One*, 15(1), pp.1–27.
- Ebeler, S. & Terrien, M., 2000. Analysis of brandy aroma by solid-phase microextraction and liquid-liquid extraction. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(5), pp.625–630.
- Ebeler, S.E., 2001. Analytical chemistry: Unlocking the secrets of wine flavor. *Food Reviews International*, 17(1), pp.45–64.
- Enzell, C., 1985. Biodegradation of carotenoids-an important route to aroma compounds. *Pure and Applied Chemistry*, 57(5), pp.693–700.
- Escalona, J., Flexas, J. & Medrano, H., 1998. Contribution of different levels of plant canopy to total carbon assimilation and intrinsic water use efficiency of Manto Negro and Tempranillo grapevines. *Acta Horticulturae*, 493, pp.141–148.
- Escudero, A. et al., 2007. Analytical Characterization of the Aroma of Five Premium Red Wines. Insights into the Role of Odor Families and the Concept of Fruitiness of Wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(11), pp.4501–4510.
- Escudero, A. et al., 2004. Characterization of the Aroma of a Wine from Maccabeo. Key Role Played by Compounds with Low Odor Activity Values. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(11), pp.3516–3524.
- Escudero, A., Cacho, J. & Ferreira, V., 2000. Isolation and identification of odorants generated in wine during its oxidation: a gas chromatography-olfactometric study. *European Food Research and Technology*, 211(2), pp.105–110.
- Etievant, P., 1991. Wine. In H. Maarse, ed. *Volatile compounds in foods and beverages*. New York: Marcel Dekker, pp. 483-546.

- Etiévant, P., Issanchou, S. & Marie, S., 1989. Sensory impact of volatile phenols on red wine aroma: influence of carbonic maceration and time of storage. *Sciences des Aliments*, 9, pp.19-33.
- Falcão, L.D. et al., 2008. Aroma impact components of Brazilian Cabernet Sauvignon wines using detection frequency analysis (GC-olfactometry). *Food Chemistry*, 107(1), pp.497–505.
- Falqué, E. & Fernández, E., 1996. Effects of different skin contact times on Treixadura wine composition. *American Journal of Enology and Viticulture*, 47(3), pp.309–312.
- Falqué, E., Fernández, E. & Dubourdieu, D., 2001. Differentiation of white wines by their aromatic index. *Talanta*, 54(2), pp.271–281.
- FAO 2002. Agricultura mundial hacia los años 2015/2030. Informe resumido. Roma: FAO, 2002. pp.97
- Feng, H. et al., 2015. Influence of cluster zone leaf removal on Pinot noir grape chemical and volatile composition. *Food chemistry*, 173, pp.414–423.
- Fenoll, J. et al., 2009. Changes in the aromatic composition of the *Vitis vinifera* grape Muscat Hamburg during ripening. *Food Chemistry*, 114(2), pp.420–428.
- Fereres, E. & Evans, R., 2006. Irrigation of fruit trees and vines: an introduction. *Irrigation Science*, 24(2), pp.55–57.
- Fernández-González, M. & Di Stefano, R., 2004. Fractionation of glycoside aroma precursors in neutral grapes. Hydrolysis and conversion by *Saccharomyces cerevisiae*. *LWT - Food Science and Technology*, 37(4), pp.467–473.
- Fernández-González, M., Di Stefano, R. & Briones, A., 2003. Hydrolysis and transformation of terpene glycosides from muscat must by different yeast species. *Food Microbiology*, 20(1), pp.35–41.
- Fernández de Simón, B. et al., 2008. Volatile Compounds and Sensorial Characterization of Wines from Four Spanish Denominations of Origin, Aged in Spanish Rebollo (*Quercus pyrenaica* Willd.) Oak Wood Barrels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(19), pp.9046–9055.
- Ferreira, A. & Pinho, P., 2003. Analytical method for determination of some aroma compounds on white wines by solid phase microextraction and gas chromatography. *Journal of Food Science*, 68(9), pp.2817–2820.
- Ferreira, B. et al., 1995. Effects of skin contact and settling on the level of the C18:2, C18:3 fatty acids and C6 compounds in burgundy chardonnay musts and wines. *Food Quality and Preference*, 6(1), pp.35–41.
- Ferreira, V. et al., 2002. Chemical characterization of the aroma of Grenache rose wines: Aroma extract dilution analysis, quantitative determination, and sensory reconstitution studies. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(14), pp.4048–4054.
- Ferreira, V. et al., 1995. Investigation on the role played by fermentation esters in the aroma of young Spanish wines by multivariate analysis. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 67(3), pp.381–392.
- Ferreira, V. & Juan, F., 2011. Flavor of wine. In *Food Flavors: Chemical, Sensory and Technological Properties*. CRC Press., pp. 269–300.

- Ferreira, V., Lopez, R. & Cacho, J.F., 2000. Quantitative determination of the odorants of young red wines from different grape varieties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(11), pp.1659–1667.
- Feuillat, M., 2001. Élevage des vins rouges sur lies fines-Inérêt des interactions entre polysaccharides de levures et polyphénols du vin. *Revue des oenologues et des techniques*, 28(98), pp.17–18.
- Feuillat, M., 2003. Yeast macromolecules: origin, composition, and enological interest. *American Journal of Enology and Viticulture*, 54(3), pp.211–213.
- Filippetti, I. et al., 2013. Influence of vigour on vine performance and berry composition of cv. Sangiovese (*Vitis vinifera* L.). *OENO One*, 47(1), p.21.
- Flanzy, C. et al., 2000a. Aromas. In *Enología: Fundamentos científicos y tecnológicos*. Madrid, España: AMV y Mundi Prensa, pp. 137–176.
- Flanzy, C., 2000b. *Enología: Fundamentos científicos y tecnológicos* 1st ed., Madrid, España: AMV y Mundi Prensa, p.708.
- Fornairon-Bonnefond, C. et al., 2002. New trends on yeast autolysis and wine ageing on lees: a bibliographic review. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, 36(2), p.49.
- Fragasso, M., Antonacci, D. & Pati, S., 2012. Influence of training system on volatile and sensory profiles of Primitivo grapes and wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 63(4), pp.477–486.
- Francis, I.L., Tate, M.E. & Williams, P.J., 1996. The effect of hydrolysis conditions on the aroma released from Semillon grape glycosides. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 2(2), pp.70–76.
- Fregoni, C. & Pezzutto, S., 2000. Principes et premières approches de l'indice bioclimatique de qualité de Fregoni. *Le Progrès Agricole et Viticole*, 117, p.390–396.
- Garcia-Romero, E. et al., 1999. Fruity flavor increase of Spanish Airen white wines made by brief fermentation skin contact / Aumento del aroma afrutado de los vinos blancos Airen fermentados en presencia de hollejos. *Food Science and Technology International*, 5(2), pp.149–157.
- García, E. et al., 2003. Changes in Volatile Compounds during Ripening in Grapes of Airén, Macabeo and Chardonnay White Varieties Grown in La Mancha Region (Spain). *Food Science and Technology International*, 9(1), pp.33–41.
- Gassiot, M., Comellas, L. & Rabada, J., 1983. Caracterización de vinos. Cálculo de parámetros típicos a partir de la fracción volátil. *Afinidad*, 40, pp.213–216.
- Gawel, R., Ewart, A. & Ciriaco, R., 2000. Effect of root stock on must and wine composition and the sensory properties of Cabernet Sauvignon grown at Langhorne Creek, South Australia. *Australian and New Zealand Wine Industry Journal*, 15, p.67–73.
- Genovese, A. et al., 2009. Simulation of retronasal aroma of white and red wine in a model mouth system. Investigating the influence of saliva on volatile compound concentrations. *Food Chemistry*, 114(1), pp.100–107.
- Gil, M. et al., 2006. Characterization of the volatile fraction of young wines from the Denomination of Origin “Vinos de Madrid” (Spain). *Analytica Chimica Acta*, 563(1), pp.145–153.
- Girard, B. et al., 2002. Volatile terpene constituents in maturing Gewürztraminer grapes from British

- Columbia. *American Journal of Enology and Viticulture*, 53(2), pp.99–109.
- Goldner, M.C. et al., 2009. Effect of ethanol level in the perception of aroma attributes and the detection of volatile compounds in red wine. *Journal of Sensory Studies*, 24(2), pp.243–257.
- Gonçalves, B., Falco, V. & Moutinho-Pereira, J., 2008. Effects of elevated CO₂ on grapevine (*Vitis vinifera* L.): volatile composition, phenolic content, and in vitro antioxidant activity of red wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(1), pp.265–273.
- Gonzalez-Ramos, D. & Cebollero, E., 2008. A recombinant *Saccharomyces cerevisiae* strain overproducing mannoproteins stabilizes wine against protein haze. *Applied and Environmental Microbiology*, 74(17), pp.5533–5540.
- Grando, M. et al., 1993. Selective use of wine yeast strains having different volatile phenols production. *Vitis*, 32(1), p.43.
- Guadarrama, A. et al., 2001. Discrimination of wine aroma using an array of conducting polymer sensors in conjunction with solid-phase micro-extraction (SPME) technique. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 77(1), pp.401–408.
- Gubler, W. et al., 1987. Control of Botrytis bunch rot of grape with canopy management. *Plant disease (USA)*, 71, pp.599-601.
- Günata, Y., Bayonove, C. & Baumes, R., 1985. The aroma of grapes I. Extraction and determination of free and glycosidically bound fractions of some grape aroma components. *Journal of Chromatography A*, 331, pp.83–90.
- Günata, Y., Bayonove, C. & Tapiero, C., 1990. Hydrolysis of grape monoterpenyl. beta.-D-glucosides by various. beta.-glucosidases. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38, pp.1232–1236.
- Gunata, Y.Z. et al., 1985. The aroma of grapes. Localisation and evolution of free and bound fractions of some grape aroma components c.v. Muscat during first development and maturation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 36(9), pp.857–862.
- Guth, H., 1997. Quantitation and Sensory Studies of Character Impact Odorants of Different White Wine Varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(8), pp.3027–3032.
- Hannah, L., Roehrdanz, P. & Ikegami, M., 2013. Climate change, wine, and conservation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(10), pp.6907–6912.
- Hatanaka, A., 1993. The biogeneration of green odour by green leaves. *Phytochemistry*, 34(5), pp.1201–1218.
- Hayasaka, Y. & Bartowsky, E., 1999. Analysis of Diacetyl in Wine Using Solid-Phase Microextraction Combined with Gas Chromatography–Mass Spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(2), pp.612–617.
- Heard, G., 1999. Novel yeasts in winemaking: looking to the future. *Food Australia*, 51(8), pp.347–352.
- Heard, G. & Fleet, G., 1985. Growth of natural yeast flora during the fermentation of inoculated wines. *Applied and Environmental Microbiology*, 50(3), pp.727–728.
- Heaven, M.W. & Nash, D., 2012. Recent analyses using solid phase microextraction in industries related to

- food made into or from liquids. *Food Control*, 27(1), pp.214–227.
- Herjavec, S. et al., 2007. The quality of white wines fermented in Croatian oak barrels. *Food chemistry*, 100(1), pp.124–128.
- Hernandez-Orte, P. et al., 2014. Influence of viticulture practices on grape aroma precursors and their relation with wine aroma. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(4), pp.688–701.
- Hernández-Orte, P. et al., 2008. The development of varietal aroma from non-floral grapes by yeasts of different genera. *Food Chemistry*, 107(3), pp.1064–1077.
- Hernandez Orte, P. et al., 1998. Effect of maceration time and the addition of enzymes on the amino acid composition of musts and wines and its influence on wine aroma. *Food Science and Technology International*, 4(6), pp.407–418.
- Herraiz, T. et al., 1991. Identification of aroma components of Spanish “Verdejo” wine. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 55(1), pp.103–116.
- Heuvel, J. & Proctor, J., 2004. Influence of training/trellising system and rootstock selection on productivity and fruit composition of Chardonnay and Cabernet franc grapevines in Ontario, Canada. *American Journal of Enology and Viticulture*, 55(3), pp.253–264.
- Hidalgo, L., 1999. *Tratado de viticultura general*, 2nd ed., Madrid, España: Mundi-Prensa, p.1171.
- Holt, H., Francis, I. & Field, J., 2008. Relationships between wine phenolic composition and wine sensory properties for Cabernet Sauvignon (*Vitis vinifera* L.). *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 14(3), pp.162–176.
- Howell, G., Miller, D. & Edson, C., 1991. Influence of training system and pruning severity on yield, vine size, and fruit composition of Vignoles grapevines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 42(3), pp.191–198.
- Iland, P., Cynkar, W. & Francis, I., 1996. Optimisation of methods for the determination of total and red-free glycosyl glucose in black grape berries of *Vitis vinifera*. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 2(3), pp.171–178.
- Immélé, A. & Pagani, C., 2014. Cahier technique spécial congrès. 2. Le réchauffement climatique appelle une autre oenologie! *Revue française d'oenologie*, 264, pp.6–7.
- Ingelmo, F., 1998. Uso de cubiertas vegetales herbáceas en cultivos de cítricos para el uso sostenible del suelo. *Revista Valenciana D'Estudis Autònoms*, 25, pp.377–389.
- Jackson, D. & Lombard, P., 1993a. Environmental and Management-Practices Affecting Grape Composition and Wine Quality - a Review. *American Journal of Enology and Viticulture*, 44(4), pp.409–430.
- Ji, T. & Dami, I., 2008. Characterization of free flavor compounds in Traminette grape and their relationship to vineyard training system and location. *Journal of Food Science*, 73(4), pp.262–267.
- Jones, G. et al., 2005. Climate change and global wine quality. *Climatic change*, 73(3), pp.319–343.
- Jones, G. & Davis, R., 2000. Climate Influences on Grapevine Phenology, Grape Composition, and Wine Production and Quality for Bordeaux, France. *American Journal of Enology and Viticulture*, 51(3), pp.249–261.

- Jones, P. et al., 2008. The influence of interactions between major white wine components on the aroma, flavour and texture of model white wine. *Food quality and preference*, 19(6), pp.596–607.
- Junquera, B., Díez, C. & Santa María, G., 1987. Correlación entre la composición polifenólica del mosto y el grado de madurez de la uva. In *II Congreso Mundial de Tecnología de los alimentos*.
- Jurado, J. & Pinilla, M., 2002. Características varietales de los vinos Moscatel de Grano Menudo y Albillo en comparación con los Moscatel de Alejandría y Chardonnay. *Tecnología del vino*, pp.57–74.
- Kalua, C. & Boss, P., 2009. Evolution of volatile compounds during the development of Cabernet Sauvignon grapes (*Vitis vinifera* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(9), pp.3818–3830.
- Keller, M., 2010. *The science of grapevines. Anatomy and physiology*, New York, USA: Academic Press, pp. 377.
- Kemp, B., Harrison, R. & Creasy, G., 2011. Effect of mechanical leaf removal and its timing on flavan-3-ol composition and concentrations in *Vitis vinifera* L. cv. Pinot Noir wine. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 17(2), pp.270–279.
- Kennedy, J., 2002. Understanding grape berry development. *Practical Winery & Vineyard*, 4, pp.1–5.
- Kennison, K., Wilkinson, K. & Pollnitz, A., 2009. Effect of timing and duration of grapevine exposure to smoke on the composition and sensory properties of wine. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 15(3), pp.228–237.
- Kilmister, R., Unwin, D. & Treeby, M., 2016. Effect of elevated CO₂ and temperature on phenology, carbohydrates, yield and grape composition: preliminary results. *Wine and Viticulture Journal*, 1, p.10.
- King, E., Dunn, R. & Heymann, H., 2013. The influence of alcohol on the sensory perception of red wines. *Food Quality and Preference*, 28(1), p.235–243.
- King, P.D., McClellan, D.J. & Smart, R.E., 2012. Effect of Severity of Leaf and Crop Removal on Grape and Wine Composition of Merlot Vines in Hawke's Bay Vineyards. *American Journal of Enology and Viticulture*, 63(4), PP.500-507.
- Kinoshita, T. et al., 2010. Formation of damascenone derived from glycosidically bound precursors in green tea infusions. *Food Chemistry*, 123(3), pp.601–606.
- Kliewer, W. & Antcliff, a, 1970. Influence of defoliation, leaf darkening, and cluster shading on the growth and composition of sultana grapes. *American Journal of Enology and Viticulture*, 21, pp.26–36.
- Kliewer, W. & Smart, R., 1988. Canopy manipulation for optimizing vine microclimate, crop yield and composition of grapes. In Manipulation of Fruiting. C.J.Wright, ed. *47th Easter School in Symposium on Agricultural Sciences*. Butterworth, London, pp. 275–291.
- Kliewer, W. & Torres, R., 1972. Effect of controlled day and night temperatures on grape coloration. *American Journal of Enology and Viticulture*, 23(2), pp.71–77.
- Kliewer, W.M. et al., 1988. Relative effectiveness of leaf removal, shoot positioning, and trellising for improving winegrape composition. In Proceedings of the Second International Symposium for Cool Climate Viticulture and Oenology. Auckland, New Zealand: Australian Society of Viticulture and Oenology, pp. 123–126.

- Kotseridis, Y. & Baumes, R., 2000. Identification of impact odorants in Bordeaux red grape juice, in the commercial yeast used for its fermentation, and in the produced wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(2), p.400–406.
- Kozina, B. et al., 2008. Influence of basal leaf removal on the chemical composition of Sauvignon Blanc and Riesling wines. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 6(1), pp.28–33.
- Kroodsma, D. & Field, C., 2006. Carbon sequestration in California agriculture, 1980–2000. *Ecological Applications*, 16(5), pp.1975–1985.
- Lacey, M.J. et al., 1991. Methoxypyrazines in Sauvignon blanc Grapes and Wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 42(2), pp.103–108.
- Lakso, A. & Kliewer, W., 1975. The influence of temperature on malic acid metabolism in grape berries I. Enzyme responses. *Plant Physiology*, 56(3), pp.370–372.
- Lateyron, C., 1983. Vinification et etude de la maceration des mouts blancs dans une cave Californienne. University of Bordeaux II-Institut of Enology, Dissertation.
- Lavín, A. & Pardo, M., 2001. Épocas de deshoje y sus efectos sobre la composición química de mostos y composición química y calidad sensorial de vinos de la cv. Chardonnay y Cabernet Sauvignon, en el área de Cauquenes. *Agricultura Técnica*, 61(2), pp.129–139.
- Lee, S. et al., 2007. Vine microclimate and norisoprenoid concentration in Cabernet Sauvignon grapes and wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 58(3), pp.291–301.
- Li, H. et al., 2008. Impact odorants of Chardonnay dry white wine from Changli County (China). *European Food Research and Technology*, 227(1), pp.287–292.
- Longo, E., Cansado, J. & Agrelo, D., 1991. Effect of climatic conditions on yeast diversity in grape musts from northwest Spain. *American Journal of Enology and Viticulture*, 42(2), pp.141–144.
- López-Cordón, E., 2010. Compuestos azufrados volátiles y riesgos de reducción en vinos. In *Viticultura y enología en la DO Ribera del Duero [ponencias del IX Curso de Verano Viticultura y Enología en la DO Ribera del Duero, 2009]*. pp. 57–62.
- López, R. et al., 2002. Determination of minor and trace volatile compounds in wine by solid-phase extraction and gas chromatography with mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography A*, 966(1), pp.167–177.
- López, R., Ortín, N. & Pérez-Trujillo, J., 2003. Impact odorants of different young white wines from the Canary Islands. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(11), pp.3419–3425.
- Lorenzo, C. et al., 2008. Differentiation of co-winemaking wines by their aroma composition. *European Food Research and Technology*, 227(3), pp.777–787.
- Lubbers, S. et al., 1994. Influence of Mannaproteins from Yeast on the Aroma Intensity of a Model Wine. *LWT - Food Science and Technology*, 27(2), pp.108–114.
- Luciano, R., Albuquerque, J. & Rufato, L., 2013. Condições meteorológicas e tipo de solo na composição da uva 'Cabernet Sauvignon'. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 48(1), pp.97–104.
- Main, G. & Morris, J., 2008. Impact of pruning methods on yield components and juice and wine composition

- of Cynthiana grapes. *American Journal of Enology and Viticulture*, 59, pp.179–187.
- Malheiro, A., Santos, J. & Fraga, H., 2010. Climate change scenarios applied to viticultural zoning in Europe. *Climate research*, 43(3), p.163.
- Mallouchos, A., Skandamis, P. & Loukatos, P., 2003. Volatile compounds of wines produced by cells immobilized on grape skins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(10), pp.3060–3066.
- Marais, J., 1987. Terpene concentrations and wine quality of *Vitis vinifera* L. cv. Gewürztraminer as affected by grape maturity and cellar practices. *Vitis*, 26(231–245).
- Marais, J., 1983. Terpenes in the aroma of grapes and wines: a review. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 4(2), pp.49–60.
- Marais, J., Hunter, J. & Haasbroek, P., 1999. Effect of canopy microclimate, season and region on Sauvignon blanc grape composition and wine quality. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 20, pp.19–30.
- Marais, J. & Rapp, A., 1988. Effect of skin-contact time and temperature on juice and wine composition and wine quality. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 9(1), pp.22–30.
- Marais, J., Wyk, C. & Rapp, A., 1992. Effect of sunlight and shade on norisoprenoid levels in weisser Riesling and Chenin blanc grapes and Weisser wines. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 13, pp.23–32.
- Marsal, J. et al., 2008. Evaluation of partial root-zone drying for potential field use as a deficit irrigation technique in commercial vineyards according to two different pipeline layouts. *Irrigation Science*, 26(4), pp.347–356.
- Martí, M. et al., 2003. Solid-Phase Microextraction and Gas Chromatography Olfactometry Analysis of Successively Diluted Samples. A New Approach of the Aroma Extract Dilution Analysis Applied to the Characterization of Wine Aroma. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(27), pp.7861–7865.
- Martínez-Santos, P. & Llamas, M., 2008. Vulnerability assessment of groundwater resources: a modelling-based approach to the Mancha Occidental aquifer, Spain. *Modelling & Software*, 23(9), pp.1145–1162.
- Martínez de Toda, F., 2011a. *Claves de la Viticultura de Calidad: Nuevas Técnicas de Estimación y Control de la Calidad de la Uva en el Viñedo* 2nd ed., Madrid, España: Mundi-Prensa, p.253.
- Martínez de Toda, F. & Balda, P., 2011b. Nuevas técnicas vitícolas para reducir el grado alcohólico de los vinos de calidad. *Tierras de Castilla y León: Agricultura*, 181, pp.100–106.
- Martorell, N. et al., 2002. Determination of 4-ethylguaiacol and 4-ethylphenol in red wines using headspace-solid-phase microextraction-gas chromatography. *Journal of Chromatography A*, 975(2), pp.349–354.
- Mastrandrea, M.D. et al., 2015. *IPCC Expert Meeting on Climate Change, Food, and Agriculture*, Dublin, Ireland.
- Mateo, J. & Jiménez, M., 2000. Monoterpenes in grape juice and wines. *Journal of Chromatography A*, 881(1), pp.557–567.
- Matthews, M. & Anderson, M., 1988. Fruit ripening in *Vitis vinifera* L.: responses to seasonal water deficits. *American Journal of Enology and Viticulture*, 39(4), pp.313–320.

- Matus, J.T. et al., 2009. Post-veraison sunlight exposure induces MYB-mediated transcriptional regulation of anthocyanin and flavonol synthesis in berry skins of *Vitis vinifera*. *Journal of Experimental Botany*, 60(3), pp.853–867.
- Mauricio, J. et al., 1993. Ester formation and specific activities of in vitro alcohol acetyltransferase and esterase by *Saccharomyces cerevisiae* during grape must fermentation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41(11), pp.2086–2091.
- May, P. & Cellier, K., 1973. The fruitfulness of grape buds. II. The variability in bud fruitfulness in ten cultivars over four seasons. *Annales de l'Amélioration des Plantes*, 23(1), pp.13–26.
- Mayol, A.R. & Acree, T.E., 2001. Advances in Gas Chromatography-Olfactometry, in *Gas chromatography-olfactometry*, J. V. Leland, P. Schieberle, A. Buettner, T. E. Acree eds, Washington DC, USA: ACS symposium series, 782, pp.1-10
- Meilgaard, M., 1975. Aroma volatiles in beer: purification, flavour, threshold and interaction. In Drawert, F. ed., *Geruch und Geschmacksstoffe Internationales*. Verlag Hans Carl, Nürnberg. pp.211-254.
- Mendes-Pinto, M., 2009. Carotenoid breakdown products the—norisoprenoids—in wine aroma. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 483(2), pp.236–245.
- Mendes, B., Gonçalves, J. & Câmara, J.S., 2012. Effectiveness of high-throughput miniaturized sorbent- and solid phase microextraction techniques combined with gas chromatography–mass spectrometry analysis for a rapid screening of volatile and semi-volatile composition of wines—A comparative study. *Talanta*, 88, pp.79–94.
- Mendez-Costabel, M.P. et al., 2013. Seasonal and regional variation of green aroma compounds in commercial vineyards of *Vitis vinifera* L. Merlot in California. *American Journal of Enology and Viticulture*, 64(4), pp.430–436.
- Mestres, M. et al., 1999. Simultaneous analysis of thiols, sulphides and disulphides in wine aroma by headspace solid-phase microextraction–gas chromatography. *Journal of Chromatography A*, 849(1), 293-297.
- Miklós, É. et al., 2000. Study of volatile aroma components in young Tokaji Aszu wines by GC-MS. *Chromatographia*, 51(1), pp.S305–S308.
- Miklós, É. & Kerényi, Z., 2004. Comparison of the volatile aroma components in noble rotted grape berries from two different locations of the Tokaj wine district in Hungary. *Analytica Chimica Acta*, 513(1), pp.177–181.
- Moio, L., Chambellant, E. & Lesschaeve, I., 1995. Production of representative wine extracts for chemical and olfactory analysis. *Italian Journal of Food Science*, 7(3), pp.265–278.
- Molina, A.M. et al., 2007. Influence of wine fermentation temperature on the synthesis of yeast-derived volatile aroma compounds. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 77(3), pp.675–687.
- Moreno, D. et al., 2016. Early leaf removal applied in warm climatic conditions: Impact on Tempranillo wine volatiles. *Food Research International*, 98, pp.50-58.
- Moreno, M.V. et al., 2014. Fire regime changes and major driving forces in Spain from 1968 to 2010.

- Environmental Science and Policy*, 37, pp.11–22.
- Morris, J., Sims, C. & Cawthon, D., 1985. Yield and quality of 'Niagara' grapes as effected by pruning severity, nodes per bearing unit, training system, and shoot positioning. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 110, pp.186–191.
- Morrison, J. & Noble, A., 1990. The effects of leaf and cluster shading on the composition of Cabernet Sauvignon grapes and on fruit and wine sensory properties. *American Journal of Enology and Viticulture*, 41(3), pp.193–200.
- Moutinho-Pereira, J. et al., 2009. Effects of elevated CO₂ on grapevine (*Vitis vinifera* L.): Physiological and yield attributes. *Vitis*, 48(4), pp.159–165.
- Muller, C.J., Kepner, R.E. & Webb, A.D., 1973. Lactones in Wines--A Review. *American Journal of Enology and Viticulture*, 24(1), pp.5-9.
- Nakicenovic, N. & Swart, R., 2000. IPCC Special Report on Emissions Scenarios: A special report of Working Group III of the Intergovernmental Panel on Climate Change. *Emissions Scenarios*, p.608.
- Nelson, G.C. et al., 2009. *Climate change: Impact on agriculture and costs of adaptation*, Washington DC, Usa: International Food Policy Research Institute (IFPRI), 21.
- Nettenbreijer, A. & Gemert, L., 1977. Compilation of odour threshold values in air and water. Voorburg. *National Institute for Water Supply*, 8(80).
- Nicholas, K. & Durham, W., 2012. Farm-scale adaptation and vulnerability to environmental stresses: Insights from winegrowing in Northern California. *Global Environmental Change*, 22(2), pp.483–494.
- Noble, A., 1982. Effect of Skin Contact on the Composition of Wine: Nonvolatiles and Volatiles. In *Grape and Wine Centennial Symposium*, University of California. Davis, California, EEUU. pp. 330–335.
- Oficina Española de Cambio Climático (OECC), 2006. *Plan Nacional de Adaptación al Cambio Climático (PNACC)*, Madrid, España: Ministerio de Medio Ambiente.
- OIV, 2012. Official methods for the analysis of musts and wines of the international organisation of vine and wine (OIV). Methods of analysis of wines and musts. (OIV-MA-INT-00-2012). Available at: <http://www.oiv.int/oiv/infoenmethodesinternationalesvinenmethodesinternationalesvin>.
- OIV, 2011. *Resolution OENO 43/2000, Cation Exchange Resins*, International Enological Codex. pp.82-89. Available at: <http://www.oiv.int/public/medias/4036/f-coei-1-reseca.pdf>
- OIV, 2016. World Vitiviniculture Situation. OIV Statistical Report on World Vitiviniculture. In 39^o *World Congress of Vine and Wine OIV*. Bento Gonçalves, Brasil.
- Oliveira, J. et al., 2004. Characterization and differentiation of five “Vinhos Verdes” grape varieties on the basis of monoterpenic compounds. *Analytica Chimica Acta*, 513(1), pp.269–275.
- Orduña, R., 2010. Climate change associated effects on grape and wine quality and production. *Food Research International*, 43(7), pp.1844–1855.
- Ortega-Heras, M. et al., 2004. Changes in wine volatile compounds of varietal wines during ageing in wood barrels. *Analytica Chimica Acta*, 513(1), pp.341–350.
- Ortega-Heras, M. & González-SanJosé, M., 2002. Aroma composition of wine studied by different extraction

- methods. *Analytica Chimica Acta*, 458(1), pp.85–93.
- Ortega, C. et al., 2001. Fast analysis of important wine volatile compounds: Development and validation of a new method based on gas chromatographic–flame ionisation detection analysis. *Journal of Chromatography A*, 923(1), pp.205–214.
- Otero, I. et al., 2010. Efectos del deshojado precoz sobre la composición aromática del vino Albariño en el valle del Salnés (D.O. Rías Baixas). In *VII International Wine Forum*. Logroño, España.
- Ough, C.S. & Lee, T.H., 1981. Effect of Vineyard Nitrogen Fertilization Level on the Formation of Some Fermentation Esters. *American Journal of Enology and Viticulture*, 32(2), pp.125–127.
- Pachauri, R. & Reisinger, A., 2007. Cambio climático 2007: Informe de síntesis. *Contribución de los Grupos de trabajo I, II y III al Cuarto Informe de evaluación del Grupo Intergubernamental de Expertos sobre el Cambio Climático (IPCC)*.
- Palliotti, A. et al., 2014. Changes in vineyard establishment and canopy management urged by earlier climate-related grape ripening: A review. *Scientia Horticulturae*, 178, pp.43–54.
- Palliotti, A., Panara, F. & Silvestroni, O., 2013. Influence of mechanical postveraison leaf removal apical to the cluster zone on delay of fruit ripening in Sangiovese (*Vitis vinifera* L.) grapevines. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 19(3), pp.369–377.
- Park, S., Morrison, J. & Adams, D., 1991. Distribution of free and glycosidically bound monoterpenes in the skin and mesocarp of Muscat of Alexandria grapes during development. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 39(3), pp.514–518.
- Parker, M., Osidacz, P. & Baldock, G., 2012. Contribution of several volatile phenols and their glycoconjugates to smoke-related sensory properties of red wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(10), pp.2629–2637.
- Pascual, S. et al., 2010. Incidencia de las cubiertas vegetales en la calidad del mosto y del vino. *Vida rural*, 305, pp.46–51.
- Pawliszyn, J.B. et al., 2012. Methods of Preparation and Manufacture of Biocompatible Solid-Phase Microextraction Coatings and Coated Devices. Google patents.
- Pedroza, M.A. et al., 2010. Global grape aroma potential and its individual analysis by SBSE–GC–MS. *Food Research International*, 43(4), pp.1003–1008.
- Peinado, R.A. et al., 2004. Comparative study of aromatic compounds in two young white wines subjected to pre-fermentative cryomaceration. *Food Chemistry*, 84(4), pp.585–590.
- Perestrelo, R., Fernandes, A., Albuquerque, F., F., et al., 2006. Analytical characterization of the aroma of Tinta Negra Mole red wine: Identification of the main odorants compounds. *Analytica Chimica*, 563(1), pp.154–164.
- Pérez-Bibbins, B. et al., 2015. Potential of lees from wine, beer and cider manufacturing as a source of economic nutrients: An overview. *Waste Management*, 40, pp.72–81.
- Pérez-Martín, F., Izquierdo-Cañas, P. & Seseña, S., 2015. Aromatic compounds released from natural precursors by selected *Oenococcus oeni* strains during malolactic fermentation. *Food Research and*

- Technology*, 240(3), pp.609–618.
- Peterlunger, E., Celotti, E. & Dalt, G. Da, 2002. Effect of training system on Pinot noir grape and wine composition. *Journal of Enology and Viticulture*, 53(1), pp.14–18.
- Plutowska, B. & Wardencki, W., 2008. Application of gas chromatography–olfactometry (GC–O) in analysis and quality assessment of alcoholic beverages – A review. *Food Chemistry*, 107(1), pp.449–463.
- Poni, S. et al., 2005. Effects of early leaf removal on cluster morphology, shoot efficiency and grape quality in two *Vitis vinifera* cultivars. *Acta Horticulturae*, (689), pp.217–226.
- Poni, S. et al., 2006. Effects of early defoliation on shoot photosynthesis, Yield Components, and Grape Composition. *American Journal of Enology and Viticulture*, 57(4), pp.397–407.
- Pool, R.M., Pratt, C. & Hubbard, H.D., 1978. Structure of Base Buds in Relation to Yield of Grapes. *American Journal of Enology and Viticulture*, 29(1), pp.36–41.
- Pozo-Bayón, M. et al., 2001. Polydimethylsiloxane solid-phase microextraction–gas chromatography method for the analysis of volatile compounds in wines: Its application to the characterization of varietal wines. *Journal of Chromatography A*, 922(1), pp.267–275.
- Pradelles, R. et al., 2008. Effects of Yeast Cell-Wall Characteristics on 4-Ethylphenol Sorption Capacity in Model Wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(24), pp.11854–11861.
- Pretorius, I.S. & Bauer, F.F., 2002. Meeting the consumer challenge through genetically customized wine-yeast strains. *Trends in Biotechnology*, 20(10), pp.426–432.
- Pretorius, I.S. & Lambrechts, M.G., 2000. Yeast and its importance to wine aroma: a review. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 21(1), pp.97–129.
- Qian, M., Fang, Y. & Shellie, K., 2009. Volatile composition of Merlot wine from different vine water status. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(16), pp.7459–746.
- Ramanathan, V. & Feng, Y., 2009. Air pollution, greenhouse gases and climate change: Global and regional perspectives. *Atmospheric Environment*, 43(1), pp.37–50.
- Ramey, D., 1996. Low input winemaking: let nature do the work. In *Proceedings of the Ninth Australian Wine Industry*. Adelaide, South Australia, pp. 26–29.
- Ramey, D., Bertrand, A. & Ough, C., 1986. Effects of skin contact temperature on Chardonnay must and wine composition. *American Journal of Enology and Viticulture*, 37(2), pp.99–106.
- Ramos, M., Jones, G. & Yuste, J., 2015. Phenology and grape ripening characteristics of cv Tempranillo within the Ribera del Duero designation of origin (Spain): influence of soil and plot characteristics. *European Journal of Agronomy*, 70, pp.57–70.
- Rapp, A. & Mandery, H., 1986. Wine aroma. *Cellular and molecular life sciences*, 42(8), pp.873–884.
- Rapp, A. & Versini, G., 1995. Influence of nitrogen compounds in grapes on aroma compounds of wines. *Developments in Food Science*, 37(C), pp. 1659–1694.
- Razungles, A. & Bayonove, C., 1988. Grape carotenoids: Changes during the maturation period and localization in mature berries. *American Journal of Enology and Viticulture*, 39(1), pp.44–48.
- Resco, P. et al., 2014. *Vulnerabilidad del viñedo español ante el Cambio Climático*. C. R. Castillo JS, ed.,

- Economía del vino en España y el mundo, Cajamar Caja Rural.
- Reynolds, A., Schlosser, J. & Power, R., 2007. Magnitude and interaction of viticultural and enological effects. I. Impact of canopy management and yeast strain on sensory and chemical composition of Chardonnay. *American Journal of Enology and Viticulture*, 58(1), pp.12–24.
- Reynolds, A. & Wardle, D., 1993. Significance of viticultural and enological practices on monoterpene flavorants of British Columbia-grown *Vitis vinifera* L. berries and juices. *Wein-Wissenschaft*, 48(3–6), pp.194–202.
- Reynolds, A.G. et al., 2004. Impact of training system and vine spacing on vine performance, berry composition, and wine sensory attributes of Riesling. *American Journal of Enology and Viticulture*, 55(1), pp.96–103.
- Reynolds, A.G. & Vanden Heuvel, J.E., 2009. Influence of Grapevine Training Systems on Vine Growth and Fruit Composition: A Review. *American Journal of Enology and Viticulture*, 60(3), pp.251–258.
- Reynolds, A.G. & Wardle, D.A., 1989. Influence of Fruit Microclimate on Monoterpene Levels of Gewürztraminer. *American Journal of Enology and Viticulture*, 40(3), pp.149–154.
- Reynolds, A.G., Wardle, D.A. & Naylor, A.P., 1996a. Impact of Training System, Vine Spacing, and Basal Leaf Removal on Riesling. Vine Performance, Berry Composition, Canopy Microclimate, and Vineyard Labor Requirements. *American Journal of Enology and Viticulture*, 47(1), pp.63–76.
- Reynolds, A.G., Yerle, S., et al., 1996b. Fruit Environment and Crop Level Effects on Pinot noir. III. Composition and Descriptive Analysis of Oregon and British Columbia Wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 47(3), pp.329–339.
- Riberau-Gayon, P. & Glories, Y., 1971. Determination de l'état de condensation des tanins du vin rouge. *C.R Acad. Sci. Paris*, 273, pp.2369–2371.
- Ribéreau-Gayon, P., 1985. New developments in wine microbiology. *Journal of Enology and Viticulture*, 36(1), pp.1–10.
- Ribéreau-Gayon, P., Dubourdieu, D., et al., 2003a. *Tratado de Enología 1. Microbiología del vino. Vinificaciones*, 1st ed., Buenos Aires: Hemisferio Sur / Mundi-Prensa, p.655.
- Ribéreau-Gayon, P., Glories, Y., et al., 2003b. *Tratado de Enología. 2. Química del vino. Estabilización y tratamientos*, 1st ed., Buenos Aires: Hemisferio Sur / Mundi-Prensa, p.554.
- Ribéreau-Gayon, P., Boidron, J.N. & Terrier, A., 1975. Aroma of Muscat grape varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 23(6), pp.1042–1047.
- Rienth, M. et al., 2016. Temperature desynchronizes sugar and organic acid metabolism in ripening grapevine fruits and remodels their transcriptome. *BMC Plant Biology*, 16(1), p.164.
- Riquelme, F. & Ramos, A., 2005. Land and water use management in vine growing by using geographic information systems in Castilla-La Mancha, Spain. *Agricultural water management*, 77(1), pp.82–95.
- Ristic, R., Downey, M. & Iland, P., 2007. Exclusion of sunlight from Shiraz grapes alters wine colour, tannin and sensory properties. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 13, pp.53–65.
- Ristic, R., Osidacz, P. & Pinchbeck, K., 2011. The effect of winemaking techniques on the intensity of smoke

- taint in wine. *Australian Journal of*, 17(2), pp.S29– S40.
- Riu-Aumatell, M., Bosch-Fusté, J. & López-Tamames, E., 2006. Development of volatile compounds of cava (Spanish sparkling wine) during long ageing time in contact with lees. *Food chemistry*, 95(2), pp.237–242.
- Rocha, S. et al., 2001. Headspace solid phase microextraction (SPME) analysis of flavor compounds in wines. Effect of the matrix volatile composition in the relative response factors in a wine model. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(11), pp.5142–5151.
- Rocha, S. et al., 2004. Volatile composition of Baga red wine: assessment of the identification of the would-be impact odourants. *Analytica Chimica Acta*, 513(1), pp.257–262.
- Rocha, S., Coutinho, P. & Barros, A., 2000. Aroma potential of two Bairrada white grape varieties: Maria Gomes and Bical. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(10), pp.4802–4807.
- Rodríguez-Bencomo, J. et al., 2003. Determination of major compounds in sweet wines by headspace solid-phase microextraction and gas chromatography. *Journal of Chromatography A*, 991(1), pp.13–22.
- Roland, A. et al., 2010. Straightforward Synthesis of Deuterated Precursors To Demonstrate the Biogenesis of Aromatic Thiols In Wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(19), pp.10684–10689.
- Romano, P. & Suzzi, G., 1996. Origin and Production of Acetoin during Wine Yeast Fermentation. *Applied and environmental microbiology*, 62(2), pp.309–15.
- Roujou de Boubée, D. et al., 2002. Location of 2-Methoxy-3-isobutylpyrazine in Cabernet Sauvignon Grape Bunches and Its Extractability during Vinification. *American Journal of Enology and Viticulture*, 53(1).
- Ruhl, E., Fuda, A. & Treeby, M., 1992. Effect of potassium, magnesium and nitrogen supply on grape juice composition of Riesling, Chardonnay and Cabernet Sauvignon vines. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 32(5), p.645.
- Ruiz, V., 2011. Advances in grape culture worldwide. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 33, pp.131–143.
- Sabon, I., Revel, G. de & Kotseridis, Y., 2002. Determination of volatile compounds in Grenache wines in relation with different terroirs in the Rhone Valley. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(22), pp.6341–6345.
- Salazar, D. & Moreno, P., 2005. *Viticultura: técnicas de cultivo de la vid, calidad de la uva y atributos de los vinos* 1st ed, Madrid, España: Mundi-Prensa, p.324.
- Salinas, M. et al., 2012. Analysis of red grape glycosidic aroma precursors by glycosyl glucose quantification. *Talanta*, 89, pp.396–400.
- San-Juan, F. et al., 2010. Producing headspace extracts for the gas chromatography–olfactometric evaluation of wine aroma. *Food Chemistry*, 123(1), pp.188–195.
- Sánchez-Palomo, E. et al., 2005. Aroma enhancement in wines from different grape varieties using exogenous glycosidases. *Food Chemistry*, 92(4), pp.627–635.
- Sánchez-Palomo, E., González-Viñas, M.A., et al., 2007a. Aroma potential of Albillo wines and effect of skin-contact treatment. *Food Chemistry*, 103(2), pp.631–640.
- Sánchez-Palomo, E., Díaz-Maroto, M.C., et al., 2007b. Aroma profile of wines from Albillo and Muscat grape

- varieties at different stages of ripening. *Food Control*, 18(5), pp.398–403.
- Sánchez-Palomo, E. et al., 2006. Contribution of free and glycosidically-bound volatile compounds to the aroma of muscat “a petit grains” wines and effect of skin contact. *Food Chemistry*, 95(2), pp.279–289.
- Sarrazin, E., Dubourdieu, D. & Darriet, P., 2007. Characterization of key-aroma compounds of botrytized wines, influence of grape botrytization. *Food chemistry*, 103(2), pp.536–545.
- Savage, S. & Sall, M., 1984. Botrytis bunch rot of grapes: Influence of trellis type and canopy microclimate. *Phytopathology*, 74(1), pp.65–70.
- Schneider, R., Baumes, R. & Bayonove, C., 1998. Volatile compounds involved in the aroma of sweet fortified wines (Vins Doux Naturels) from Grenache Noir. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(8), p.3230–3237.
- Schneider, R. et al., 2001. Monoterpenic and norisoprenoid glycoconjugates of *Vitis vinifera* L. cv. Melon B. as precursors of odorants in Muscadet wines. *Journal of Chromatography A*, 936(1–2), pp.145–157.
- Schneider, R. et al., 2004. Rapid analysis of grape aroma glycoconjugates using Fourier-transform infrared spectrometry and chemometric techniques. *Analytica Chimica Acta*, 513(1), pp.91–96.
- Schwab, W. & Davidovich-Rikanati, R., 2008. Biosynthesis of plant-derived flavor compounds. *The Plant Journal*, 54(4), pp.712–732.
- Sefton, M. et al., 2011. Occurrence, Sensory Impact, Formation, and Fate of Damascenone in Grapes, Wines, and Other Foods and Beverages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(18), pp.9717–9746.
- Sefton, M.A., 1998. Hydrolytically-released volatile secondary metabolites from a juice sample of *Vitis vinifera* grape cvs Merlot and Cabernet Sauvignon. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 4(1), pp.30–38.
- Sefton, M.A., Francis, I.L. & Williams, P.J., 1990. Volatile norisoprenoid compounds as constituents of oak woods used in wine and spirit maturation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38(11), pp.2045–2049.
- Selli, S. et al., 2004. Volatile composition of red wine from cv. Kalecik Karası grown in central Anatolia. *Food Chemistry*, 85(2), pp.207–213.
- Selli, S. et al., 2006a. Aroma components of cv. Muscat of Bornova wines and influence of skin contact treatment. *Food Chemistry*, 94(3), pp.319–326.
- Selli, S. et al., 2006b. Effect of skin contact on the free and bound aroma compounds of the white wine of *Vitis vinifera* L. cv Narince. *Food Control*, 17(1), pp.75–82.
- Serrano de la Hoz, K., 2014a. *Determinación de precursores aromáticos glicosídicos de uvas, mostos y vinos, blancos y tintos. Aplicación en bodega.*
- Serrano de la Hoz, K. et al., 2014b. The varietal aroma potential index (IPAv): a tool to evaluate the quality of grape and wines, white and red. In 37° OIV Congress. Mendoza, Argentina.
- Shinohara, T., 1985. Gas chromatographic analysis of volatile fatty acids in wines. *Agricultural and Biological Chemistry*, 49(7), pp.2211–2212.

- Simos, C., 2008. The implications of smoke taint and management practices. *Australian Viticulture*, pp.77–80.
- Singleton, V. & Esau, P., 1968. Phenolic substances in grapes and wine, and their significance. *Advances in food research. Supplement*, 1, pp.1–261.
- Simpson, R., 1979. Some important aroma components of white wine. *Food Technology in Australia*, 31, pp.516–522.
- Sipiora, M., 2009. Phenological, yield and fruit maturation responses of Merlot grapevines to timing of Winter pruning. In *16th International Giesco Symposium*. Davis, California, EEUU.
- Skinkis, P.A., Bordelon, B.P. & Butz, E.M., 2010. Effects of sunlight exposure on berry and wine monoterpenes and sensory characteristics of traminette. *American Journal of Enology and Viticulture*, 61(2), pp.147–156.
- Smart, R., 1980. Vine manipulation to improve wine grape quality. In *Proc. Symp. Grape and Wine Cent.* pp. 362–375.
- Smart, R., 1984. Climate, canopy microclimate, vine physiology and wine quality. In *International Symposium on Cool Climate Viticulture and Enology*. Oregon State University, pp. 1–18.
- Smart, R. et al., 1985a. Canopy microclimate modification for the cultivar Shiraz. I. Definition of canopy microclimate. *Vitis*, 24, pp.17–31.
- Smart, R., 1985b. Principles of Grapevine Canopy Microclimate Manipulation with Implications for Yield and Quality. A Review. *American Journal of Enology and Viticulture*, 36(3), pp.230–239.
- Smart, R., 1986. Influence of light on composition and quality of grapes. In *Symposium on Grapevine Canopy and Vigor Management, XXII IHC 206*. pp. 37–48.
- Smith, S. et al., 1988. Viticultural and oenological implications of leaf removal for New Zealand vineyards. In *Proceedings of the Second International Symposium for Cool Climate Viticulture and Oenology*. pp. 127–133.
- Somers, T., 1975. In search of quality for red wines. *Food Technology in Australia*, 27, pp.49–56.
- Song, J. et al., 2014. Pinot Noir wine composition from different vine vigour zones classified by remote imaging technology. *Food Chemistry*, 153, pp.52–59.
- Spayd, S.E. et al., 2002. Separation of Sunlight and Temperature Effects on the Composition of *Vitis vinifera* cv. Merlot Berries. *American Journal of Enology and Viticulture*, 53(3), pp.171–182.
- Standage, T. & Dols Gallardo, G., 2006. *La historia del mundo en seis tragos : de la cerveza de los faraones a la Coca-Cola* 1st ed. Debate.
- Steffen, A. & Pawliszyn, J., 1996. Analysis of Flavor Volatiles Using Headspace Solid-Phase Microextraction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(8), pp.2187–2193.
- Steinke, R. & Paulson, M., 1964. Phenols from grain. The production of steam volatile phenols during the cooking and alcoholic fermentation of grain. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 12(4), pp.381–387.
- Stoll, M., Lafontaine, M. & Schultz, H., 2010. Possibilities to reduce the velocity of berry maturation through

- various leaf area to fruit ratio modifications in *Vitis vinifera* L. Riesling. *Le Progrès agricole et viticole*, 127(3), pp.68–71.
- Stott, P. et al., 2001. Attribution of twentieth century temperature change to natural and anthropogenic causes. *Climate Dynamics*, 17(1), pp.1–21.
- Straub, B., Kicherer, M. & Schilcher, S., 1995. The formation of biogenic amines by fermentation organisms. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*, 201(1), pp.79–82.
- Suárez Lepe, J.A., 1997. *Levaduras vinicas: funcionalidad y uso en bodega*. Madrid, España: Mundi Prensa, p.269.
- Suárez Lepe, J.A. & Leal, B.I., 2003. *Microbiología enológica: fundamentos de vinificación* 3rd ed., Madrid, España: Mundi-Prensa, p.714.
- Swiegers, J. & Pretorius, I., 2005. Yeast modulation of wine flavor. *Advances in applied microbiology*, 57, pp.131–175.
- Tarara, J., Lee, J. & Spayd, S., 2008. Berry temperature and solar radiation alter acylation, proportion, and concentration of anthocyanin in Merlot grapes. *American Journal of Enology and Viticulture*, 59(3), pp.235–247.
- Tardáguila, J. et al., 2008. Effects of timing of leaf removal on yield, berry maturity, wine composition and sensory properties of cv. Grenache grown under non irrigated conditions. *OENO One*, 42(4), p.221.
- Tardaguila, J., Toda, F. de & Poni, S., 2010. Impact of early leaf removal on yield and fruit and wine composition of *Vitis vinifera* L. Graciano and Carignan. *American Journal of Enology and Viticulture*, 61(3), pp.372–381.
- Thibon, C. et al., 2008. Analysis of the diastereoisomers of the cysteinylated aroma precursor of 3-sulfanylhexanol in *Vitis vinifera* grape must by gas chromatography coupled with ion trap tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1183(1), pp.150–157.
- Tomana, T. & Utsonomiya, N., 1979. The effect of environmental temperatures on fruit ripening on the tree. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, 48(3), pp.261–266.
- Tominaga, T., Darriet, P. & Dubordieu, D., 1996. Identification de l'acétate de 3-mercaptophexanol, composé à forte odeur de buis, intervenant dans l'arôme des vins de Sauvignon. *VITIS - Journal of Grapevine Research*, 35(4), pp.207–210.
- Tominaga, T. et al., 1998. Identification of new volatile thiols in the aroma of *Vitis vinifera* L. var. Sauvignon blanc wines. *Flavour and Fragrance Journal*, 13(3), pp.159–162.
- Tonietto, J. & Carbonneau, A., 2004. A multicriteria climatic classification system for grape-growing regions worldwide. *Agricultural and Forest Meteorology*, 124(1–2), pp.81–97.
- Torchio, F. et al., 2016. Use of response surface methodology for the assessment of changes in the volatile composition of Moscato bianco (*Vitis vinifera* L.) grape berries during ripening. *Food Chemistry*, 212, pp.576–584.
- Tosi, E. et al., 2012. Effects of noble rot on must composition and aroma profile of Amarone wine produced by the traditional grape withering protocol. *Food Chemistry*, 130(2), pp.370–375.

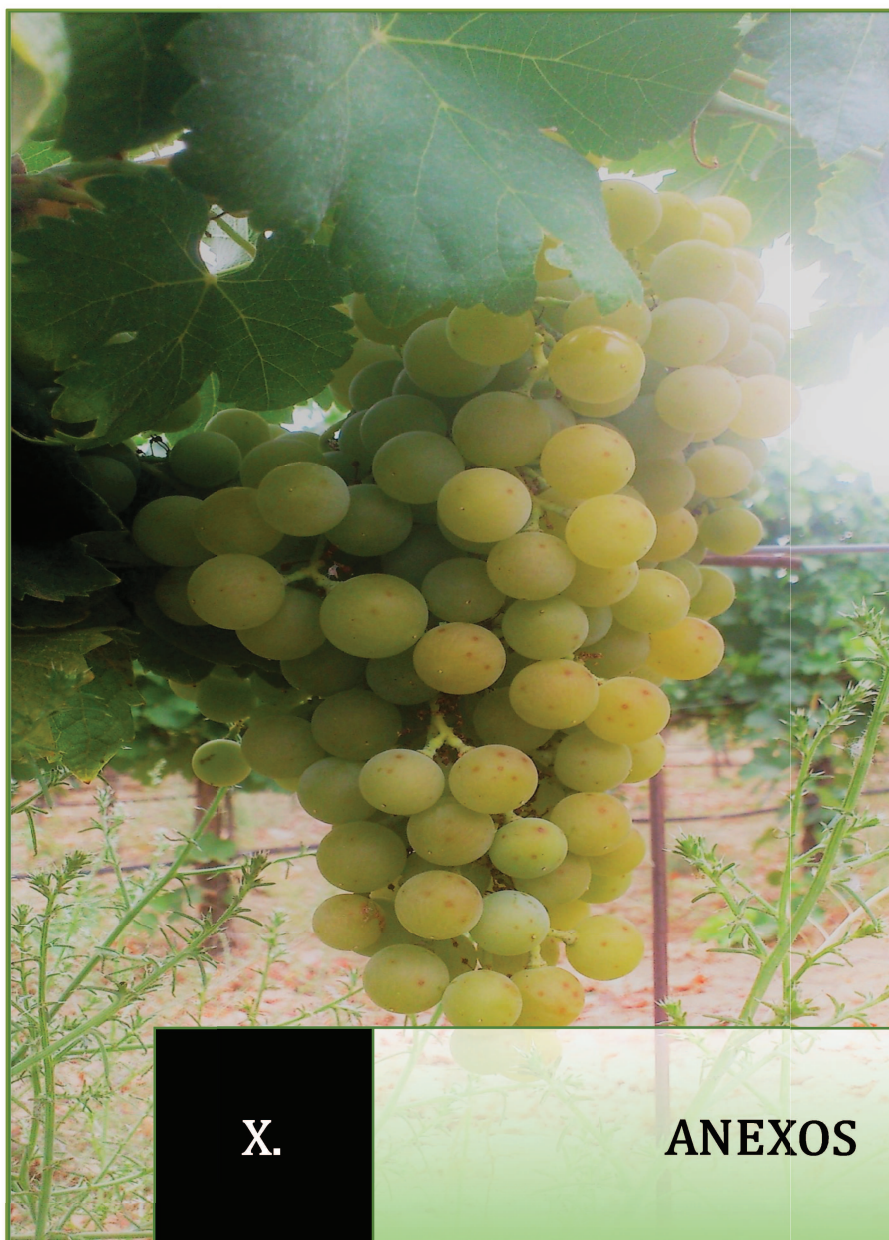
- Tregoat, O. et al., 2002. Etude du régime hydrique et de la nutrition azotée de la vigne par des indicateurs physiologiques. Influence sur le comportement de la vigne et la maturation du raisin (*Vitis vinifera* L. cv Merlot, 2000, Bordeaux). *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, 36, pp.133–142.
- Ugliano, M. & Henschke, P.A., 2009. Yeasts and Wine Flavour. In *Wine Chemistry and Biochemistry*. New York, NY: Springer New York, pp. 313–392.
- Ugliano, M. & Moio, L., 2006. The influence of malolactic fermentation and *Oenococcus oeni* strain on glycosidic aroma precursors and related volatile compounds of red wine. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86(14), pp.2468–2476.
- Van Leeuwen, C. & Seguin, G., 1994. Incidences de l'alimentation en eau de la vigne, appréciée par l'état hydrique du feuillage, sur le développement de l'appareil végétatif et la maturation du raisin (*Vitis vinifera* variété Cabernet franc, Saint-Emilion, 1990). *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, 28, pp.81–110.
- Van Leeuwen, C., Friant, P. & Chone, X., 2004. Influence of climate, soil, and cultivar on terroir. *Journal of Enology and Viticulture*, 55(3), pp.207–217.
- Vallesi, M. & Howell, G., 2007. The Ashes we didn't want: smoke taint in vintage 2007. *New Zealand grapegrower and winemaker*, 520, pp.66–67.
- Vas, G. et al., 1998. Determination of Volatile Aroma Compounds of Blaufrankisch Wines Extracted by Solid-Phase Microextraction. *Journal of Chromatographic Science*, 36(10), pp.505–510.
- Vejarano, R., Loira, I. & Barrado, A., 2012. Empleo de fermentaciones secuenciales con levaduras no-Saccharomyces y aplicación de bloqueadores metabólicos para reducir el grado alcohólico en vinos. In XXXV World Congress of Vine and Wine OIV. Izmir, Turkey.
- Versini, G., Oriols, I. & Serra, A.D., 2015. Aroma components of Galician Albariño, Loureira and Godello wines. *Vitis*, 33(3), p.165.
- Verzera, A., Tripodi, G. & Dima, G., 2016. Leaf removal and wine composition of *Vitis vinifera* L. cv. Nero d'Avola: the volatile aroma constituents. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(1), pp.150–159.
- Viana, F. et al., 2009. Increasing the levels of 2-phenylethyl acetate in wine through the use of a mixed culture of *Hanseniaspora osmophila* and *Saccharomyces cerevisiae*. *International Journal of Food Microbiology*, 135(1), pp.68–74.
- Vianna, E. & Ebeler, S.E., 2001. Monitoring ester formation in grape juice fermentations using solid phase microextraction coupled with gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(2), pp.589–595.
- Vilanova, M. et al., 2007. Assimilable nitrogen utilisation and production of volatile and non-volatile compounds in chemically defined medium by *Saccharomyces cerevisiae* wine yeasts. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 77(1), pp.145–157.
- Vilanova, M. et al., 2012. Changes in free and bound fractions of aroma compounds of four *Vitis vinifera* cultivars at the last ripening stages. *Phytochemistry*, 74, pp.196–205.

- Vilanova, M. et al., 2013. Volatile composition and sensory properties of North West Spain white wines. *Food Research International*, 54(1), pp.562–568.
- Vilanova, M. et al., 2015. Variability in chemical composition of *Vitis vinifera* cv. Mencía from different geographic areas and vintages in Ribeira Sacra (NW Spain). *Food chemistry*, 169, pp.187–196.
- Walker, R. et al., 2003. Salinity effects on vines and wines. *Bulletin de l'OIV*, 76(865–66), pp.200–227.
- Waters, E., 2000. A review of current knowledge on polysaccharides which "protect" against protein haze in white wine. *Australian Grapegrower & Winemaker*, 438a, pp.13–17.
- Waters, E.J., Pellerin, P. & Brillouet, J.-M., 1994. A *Saccharomyces* mannoprotein that protects wine from protein haze. *Carbohydrate Polymers*, 23(3), pp.185–191.
- Webb, L. et al., 2009. Extreme heat: managing grapevine response. In *GWRDC and University of Melbourne*.
- Williams, P. et al., 1995. Quantification of Glycosides in Grapes, Juices, and Wines through a Determination of Glycosyl Glucose. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43(1), pp.121–128.
- Williams, P., Strauss, C. & Wilson, B., 1982. Novel monoterpene disaccharide glycosides of *Vitis vinifera* grapes and wines. *Phytochemistry*, 21(8), pp.2013–2020.
- Williams, P.J., Sefton, M.A. & Wilson, B., 1989. Nonvolatile Conjugates of Secondary Metabolites as Precursors of Varietal Grape Flavor Components. In *ACS Symposium Series*. pp. 35–48.
- Wilson, B., Strauss, C.R. & Williams, P.J., 1986. The distribution of free and glycosidally bound monoterpenes among skin, juice and pulp fractions of some white grape varieties. *Journal of Enology and Viticulture*, 37, pp.107–11.
- Xu, X.Q. et al., 2015. Effect of training systems on fatty acids and their derived volatiles in Cabernet Sauvignon grapes and wines of the north foot of Mt. Tianshan. *Food Chemistry*, 181, pp.198–206.
- Xu, Y., Fan, Y. & Qian, M., 2007. Characterization of Aroma Compounds in Apple Cider Using Solvent-Assisted Flavor Evaporation and Headspace Solid-Phase Microextraction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(8), pp.3051–3057.
- Yuan, F., Feng, H. & Qian, M.C., 2015. C13-Norisoprenoids in Grape and Wine Affected by Different Canopy Management. In *Advances in Wine Research*. ACS symposium series, pp. 147–160.
- Yuan, F. & Qian, M., 2016. Aroma Potential in Early-and Late-Maturity Pinot noir Grapes Evaluated by Aroma Extract Dilution Analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64, pp.443–450.
- Yuan, F. & Qian, M., 2006. Quantification of selected aroma-active compounds in Pinot noir wines from different grape maturities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(22), pp.8567–8573.
- Yuan, F. & Qian, M.C., 2016. Development of C13-norisoprenoids, carotenoids and other volatile compounds in *Vitis vinifera* L. Cv. Pinot noir grapes. *Food Chemistry*, 192, pp.633–641.
- Yuste, J., 2002. Nuevas tendencias de la viticultura: operaciones en verde. In *Viticultura y Enología D.O. "Ribera del Duero": [Ponencias del I Curso de Viticultura y Enología D.O. Ribera del Duero, 2001]*, Consejo Regulador de la Denominación de Origen Ribera del Duero, pp. 39–44.
- Zalacain, A. et al., 2007. Analysis of wine primary aroma compounds by stir bar sorptive extraction. *Talanta*,

- 71(4), pp.1610–1615.
- Zamora, F., 2006. El cambio climático: una amenaza para nuestra vitivinicultura. *Enólogos*, 39, pp.28–31.
- Zea, L., Moyano, L. & Medina, M., 2010. Changes in aroma profile of sherry wines during the oxidative ageing. *International Journal of Food Science & Technology*, 45(11), pp.2425–2432.
- Zhang, Z. & Pawliszyn, J., 1993. Headspace solid-phase microextraction. *Analytical Chemistry*, 65(14), pp.1843–1852.
- Zhou, Y., Riesen, R. & Gilpin, C.S., 1996. Comparison of Amberlite XAD-2/Freon 11 Extraction with Liquid/Liquid Extraction for the Determination of Wine Flavor Components. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(3), pp.818–822.
- Zoecklein, B. & Douglas, L., 2000. Evaluation of the phenol-free glycosyl-glucose determination. *American Journal of Enology and Viticulture*, 51(4), pp.420–423.
- Zoecklein, B., Wolf, T. & Duncan, S., 1998. Effect of fruit zone leaf removal on total glycoconjugates and conjugate fraction concentration of Riesling and Chardonnay (*Vitis vinifera* L.) grapes. *American Journal of Enology and Viticulture*, 49(3), pp.259–265.
- Zoecklein, B.W. et al., 2008. Effect of Vertical Shoot-Positioned, Smart-Dyson, and Geneva Double-Curtain Training Systems on Viognier Grape and Wine Composition. *American Journal of Enology and Viticulture*, 59(1), pp.11–21.

NORMATIVA APLICADA

- AENOR. 2004. UNE-EN ISO 4120. Análisis sensorial. Metodología. Prueba triangular (ISO 4120:2007).
- REGLAMENTO (CEE) N ° 997/81 DE LA COMISIÓN de 26 de marzo de 1981 sobre modalidades de aplicación para la designación y presentación de los vinos y mostos de uva.
- REGLAMENTO (CE) N° 557/94 DE LA COMISIÓN de 14 de marzo de 1994 por el que se establece una medida transitoria en materia de acidez titulable de los vinos de mesa producidos en España y Portugal despachados al consumo en el mercado de dicho Estados miembros durante el año 1994.
- REGLAMENTO (CE) No 1493/1999 DEL CONSEJO de 17 de mayo de 1999 por el que se establece la organización común del mercado vitivinícola.
- REGLAMENTO (CE) 606/2009 DE LA COMISIÓN de 10 de julio de 2009 que fija determinadas disposiciones de aplicación del Reglamento (CE) no 479/2008 del Consejo en lo relativo a las categorías de productos vitícolas, las prácticas enológicas y las restricciones aplicables.



X.

ANEXOS

ANEXO 1: Abreviaturas

ACP: Análisis de Componentes principales
ANOVA: Análisis de la Varianza
AOC: Appellation d'origine contrôlée
C: Concentración
°C: Grado Centígrado
CO₂: Dióxido de Carbono
Cv: Cultivo
D.O.: Denominación de origen
D.O.Ca.: Denominación de origen calificada
D.O.P.: Denominación de Origen Protegida
EPA: Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos
FAO: Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura
FID: Detector de ionización de llama
GC: Cromatografía de gases
GEI: Gases de efecto invernadero
GC-FID: Cromatografía de gases con detección por ionización de llama
GC-MS: Cromatografía de gases con acoplamiento de espectrometría de masas
g: Gramo
GAP: Grado Alcohólico Probable
h: hora
Ha: Hectárea
hl: Hectolitro
HS: Espacio de cabeza
IFPRI: Instituto Internacional de Investigación sobre Políticas Alimentarias
I.G.P.: Indicación Geográfica Protegida
IPCC: Grupo Intergubernamental de Expertos sobre el Cambio
Kg: Kilogramo
L: Litro
L.C.: Límite de cuantificación
L.D.: Límite de detección
LLE: Extracción líquido-líquido
LSA: Levadura Seca Activa
m: Metro
mg: Miligramo
min: Minuto
ml: Mililitro

MS: Espectrometría de masas
nº: Número
ng: nanogramo
OAV: Valor de actividad aromática
OIV: Organización Internacional de la Viña y el Vino
OEMV: Observatorio Español del Mercado del Vino
OEEC: Oficina Española de Cambio Climático
OIV: la Organización Internacional de la Viña y el Vino
P₅₀: Peso de 50 bayas
ppb: Partes por billón
ppm: Partes por millón
rpm: Revoluciones por minuto
SENC: Sociedad Española de Nutrición Comunitaria
SPE: Extracción en fase sólida
SPME: Microextracción en fase sólida
SPSS: Statistical Package for the Social Sciences
T: Temperatura
t: Tonelada
UE: Unión Europea
UPO: Umbral de percepción olfativa
UV: Ultravioleta
VA: Valor de la actividad aromática o valor de aroma
V₅₀: Velocidad de consumición del 50% del contenido en azúcar
Vf: velocidad de fermentación (% de azúcar consumido a diario)
P₅₀: Peso de 50 bayas
µL: Microlitro
µg: Microgramo
%: Porcentaje

ANEXO 2. Rectas calibrado de compuestos volátiles varietales del vino (GC-MS)

Tabla 44. Ecuaciones de las calibraciones para cada compuesto volátil y su valor de R^2 para el método HS-SPME/GC-MS con inyección automática (A) e inyección manual (B)

Compuesto	Recta de calibrado	R^2
(A)		
Limoneno	$y = 0,0148x + 0,0088$	0,9951
Linalol	$y = 0,0033x + 0,1949$	0,9893
α -Terpineol	$y = 0,0012x + 0,0094$	0,9919
β -Citronelol	$y = 0,0019x + 0,0107$	0,9983
Geraniol	$y = 0,0011x - 0,0052$	0,9918
(B)		
β -Mirceno	$y = 0,0283x - 0,0106$	0,9823
α -Terpineno	$y = 0,0298x - 0,0074$	0,9935
Limoneno	$y = 0,0046x - 0,0004$	0,9991
γ -Terpineno	$y = 0,0027x + 6E-05$	0,9984
Linalol	$y = 0,0194x - 0,059$	0,9987
α -Terpineol	$y = 0,0155x - 0,1357$	0,9866
β -Citronelol	$y = 0,0253x - 0,0373$	0,9917
Geraniol	$y = 0,0082x - 0,0421$	0,9803
Damascenona	$y = 0,0468x - 0,0172$	0,9814
Damascenona	$y = 0,00218x - 0,0072$	0,9884

ANEXO 3. Rectas calibrado de compuestos volátiles mayoritarios del vino (GC-FID)

Tabla 45. Ecuaciones de las calibraciones para cada compuesto volátil y su valor de R² para el método LPE/GC-FID

Compuesto	Recta de calibrado	R ²
Isobutirato de etilo	$y = 0,1691x + 0,0549$	0,9806
Diacetilo	$y = 0,3745x - 0,0021$	0,9901
Butirato de etilo	$y = 0,418x - 0,0208$	0,9979
Isovalerato de etilo	$y = 3,7667x + 0,0079$	0,9977
Isobutanol	$y = 0,8902x + 0,1795$	0,9985
Acetato de isoamilo	$y = 0,5346x - 0,0811$	0,9985
1-Butanol	$y = 0,9017x + 0,094$	0,9978
Alcohol isoamílico	$y = 1,7119x + 4,6555$	0,9961
Hexanoato de etilo	$y = 0,4663x - 0,007$	0,9943
Acetato de hexilo	$y = 0,8264x - 0,0291$	0,9950
Acetoína	$y = 0,1474x + 0,1326$	0,9965
Lactato de etilo	$y = 0,3798x - 0,0272$	0,9978
1-Hexanol	$y = 0,7023x - 0,0224$	0,9990
Cis-3-hexen-1-ol	$y = 0,756x - 0,0139$	0,9976
Octanoato de etilo	$y = 0,4966x - 0,0142$	0,9967
3-Hidroxi-butirato de etilo	$y = 1,2973x + 0,0018$	0,9987
Benzaldehído	$y = 0,867x - 0,0006$	0,9968
Ácido isobutírico	$y = 0,312x - 0,0083$	0,9943
Ácido butírico	$y = 4,1768x - 0,3768$	0,9901
γ -Butirolactona	$y = 0,3573x + 0,0528$	0,9991
Ácido isovalerianico	$y = 0,876x - 0,0093$	0,9945
Succinato de dietilo	$y = 0,3247x + 0,0115$	0,9989
Metionol	$y = 0,1728x + 0,0047$	0,9897
Acetato de 2-feniletilo	$y = 0,5076x - 0,0003$	0,9972
Ácido hexanoico	$y = 0,4444x - 0,0016$	0,9974
Alcohol bencílico	$y = 1,4512x - 0,003$	0,9972
β -Feniletanol	$y = 0,5532x - 0,4167$	0,9977
Ácido octanoico	$y = 0,485x + 0,0134$	0,9984
Ácido decanoico	$y = 0,8347x + 0,0224$	0,9979

ANEXO 4. Gráfica de seguimiento de las microvinificaciones en el laboratorio

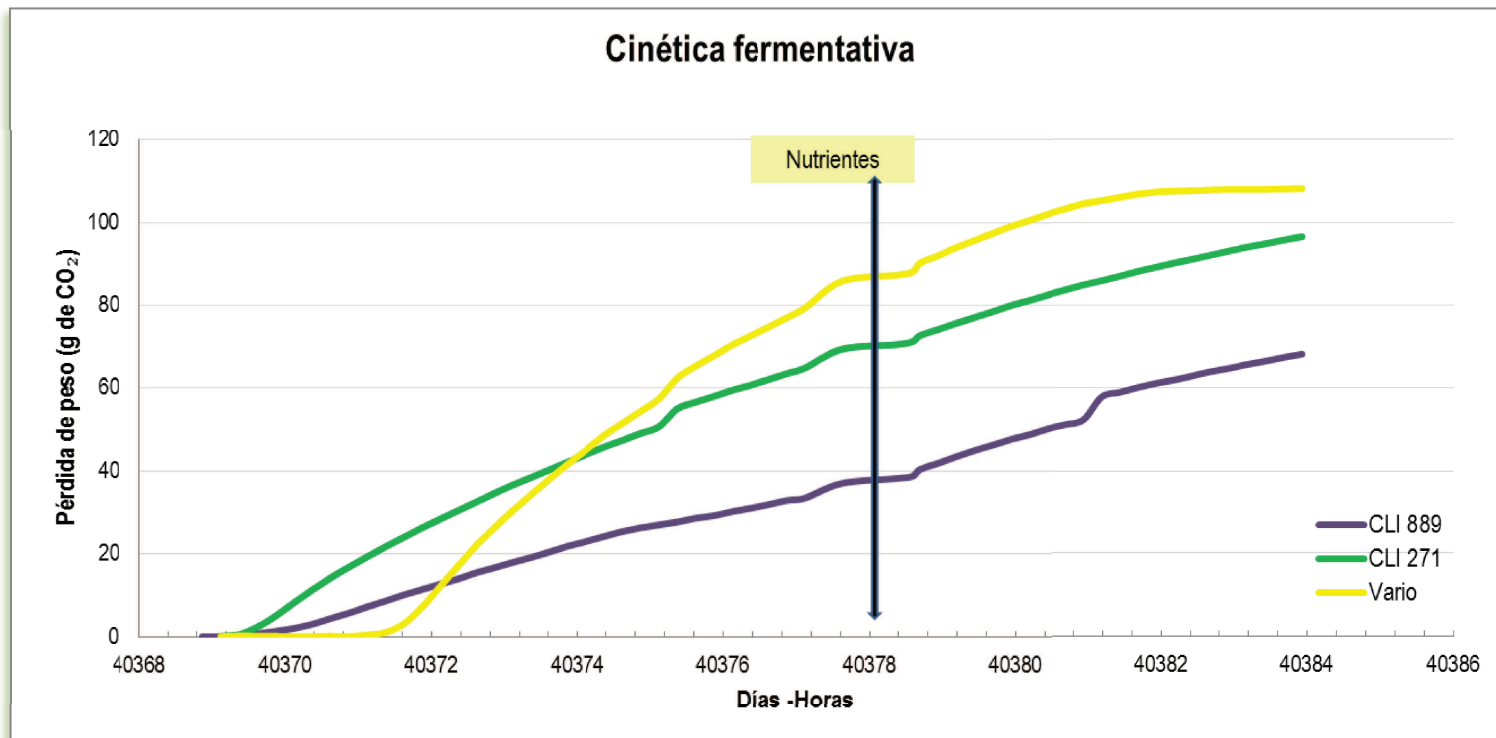


Figura 93. Representación gráfica de la pérdida de peso expresada como ganancia de CO₂ (g) en las fermentaciones a escala laboratorio de las levaduras de estudio en mosto de Malvasía Aromática